



โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

เรื่อง

อิเล็กโทรสปินนิงของพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่มีกรดโฟลิกสำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อ  
Electrospinning of poly methyl methacrylate containing folic acid for tissue engineering

โดย

|              |           |          |
|--------------|-----------|----------|
| นสภ. อัญชิสา | บุรณะพงศ์ | 57210097 |
| นสภ. ณภัทร   | เก็บไว้   | 57210109 |
| นสภ. Ry      | Pagnrith  | 57210156 |

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2561

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

## โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

### เรื่อง

อิเล็กโทรสปินนิงของพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่มีกรดโฟลิกสำหรับวิศวกรรม  
เนื้อเยื่อ

Electrospinning of poly methyl methacrylate containing folic acid for tissue  
engineering

### โดย

|              |           |          |
|--------------|-----------|----------|
| นสภ. อัญชิสา | บุรณะพงศ์ | 57210097 |
| นสภ. ณภัทร   | เก็บไว้   | 57210109 |
| นสภ. Ry      | Pagnrith  | 57210156 |

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาบัณฑิต ปีการศึกษา 2561  
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

## คำนำ

ในปัจจุบันเส้นใยที่ผลิตมาจากพอลิเมอร์สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นทางการแพทย์ได้หลากหลาย เช่น การนำส่งยา การใช้เป็นวัสดุทำผ้าปิดแผล และการทำวิศวกรรมเนื้อเยื่อ พอลิเมอร์ที่เหมาะสมสำหรับใช้ในทางการแพทย์ควรเป็นพอลิเมอร์ที่เข้ากันได้และไม่เป็นพิษกับร่างกาย โดยพอลิเมอร์ที่สามารถนำมาผลิตเป็นเส้นใยมีหลากหลายชนิด คณะผู้วิจัยเห็นว่าพอลิเมอร์พอลิเมทิลเมทาไครเลตยังคงมีการศึกษาน้อยที่นำพอลิเมอร์นี้มาผสมกับสารอื่นเพื่อศึกษาในด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ กรดโพลีแลคติกเป็นสารที่มีคุณสมบัติช่วยเร่งการเจริญเติบโตของเซลล์ คณะผู้วิจัยจึงนำกรดโพลีแลคติกมาผสมกับพอลิเมทิลเมทาไครเลตเพื่อใช้ในการทำเส้นใยสำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อ โดยเลือกวิธีอิเล็กโตรสปินนิง เพราะว่าเป็นกระบวนการที่ง่าย และสามารถผลิตเส้นใยที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดนาโนหรือไมโครได้ และวิธีนี้สามารถผลิตเส้นใยที่มีลักษณะเหมือนนาตริกซ์นอกเซลล์

โดยงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับผลิตเส้นใยและศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่มีกรดโพลีแลคติกสำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อ เพื่อเป็นทางเลือกในการพัฒนาการนำส่งยาในอนาคต

คณะผู้วิจัย

7 ธันวาคม 2561

## โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ปีการศึกษา 2561

### เรื่อง อิเล็กโทรสปินนิ่งของพอลิเมทิลเมทาโครเลตที่มีกรดโพลีสำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อ ผู้จัดทำโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

1.นศภ. อัญชิสา บุรณะพงศ์ รหัส 57210097

2.นศภ. ณภัทร เก็บไว้ รหัส 57210109

3.นศภ. Ry Pagnrith รหัส 57210156

### อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์

1. ภก.ผศ.ดร.ณัฐธัญ เจริญศรีวิไลวัฒน์

2. ภก.สุภาพกรณ์ เจริญยิ่ง

## บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ใช้แผ่นเส้นใยพอลิเมอร์พอลิเมทิลเมทาโครเลตมวลโมเลกุล 120,000 และ 350,000 ที่ผสมกรดโพลี เพื่อทำท่อนำประสาทผ่านกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิ่ง โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมและคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของเส้นใยพอลิเมทิลเมทาโครเลตที่มีกรดโพลีสำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อ ศึกษาสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน(SEM) ศึกษาโครงสร้างด้วย เครื่องฟลูอิดไรต์รานส์ฟอรั่ม อินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ (FTIR) ศึกษาโครงสร้างผลึกด้วยเครื่องวัดค่าความต่างความร้อนของสาร (DSC) และ เครื่องเอกซเรย์ดิฟแฟรกชัน (PXRD) ศึกษาคุณสมบัติเชิงกลด้วยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัสของสาร (Texture analyzer) ศึกษาความชอบน้ำด้วยเครื่องวิเคราะห์ลักษณะการหยดตัวของของเหลว (Drop shape analyzer) วิเคราะห์ปริมาณของกรดโพลีในเส้นใยด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-Visible spectrophotometer) และศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ชวานน์ด้วยวิธี MTT assay ผลการทดสอบบ่งบอกว่าขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยมวลโมเลกุล 120,000 และ 350,000 ที่ผสมกรดโพลีพบมากอยู่ในช่วง 600-800 นาโนเมตร และ 1,200-1,600 นาโนเมตร ตามลำดับ โดยเส้นใยของมวลโมเลกุล 350,000 มีความแข็งแรงมากกว่า 120,000 เส้นใยพอลิเมทิลเมทาโครเลตที่ผสมกรดโพลีอยู่ในรูปแบบอสัณฐานและมีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำโดยโครงสร้างไม่ได้เปลี่ยนแปลงเมื่อผ่านกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิ่งและมีปริมาณกรดโพลีที่วิเคราะห์ในเส้นใยทั้งสองโมเลกุลคล้ายกัน และเส้นใยไม่เป็นพิษต่อเซลล์ชวานน์ คณะผู้วิจัยจึงคิดว่าเส้นใยพอลิเมทิลเมทาโครเลตที่ผสมกรดโพลีสามารถนำไปพัฒนาต่อด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก.....

Senior Project Academic Year 2018

: Electrospinning of poly methyl methacrylate containing folic acid for tissue engineering

By

1.Miss Anshisa Booranapong ID 57210097

2.Mr. Napat Kebwai ID 57210109

3.Mr. Ry Pagnrith ID 57210156

Advisor:

1. Assist. Prof. Dr. Natthan Charernsriwilaiwat

2. Mr. Thapakorn Charoenying

## ABSTRACT

In this study, polymethylmethacrylate (PMMA) MW 120,000 (PMMA-120) and MW 350,000 (PMMA-350) loading with folic acid (FA) fiber were fabricated by electrospinning. The techniques of this study establish the optimal condition and study the physicochemical properties of PMMA/FA fibrous scaffolds for tissue engineering. The morphology of PMMA/FA fibrous scaffold were characterized by scanning electron microscope (SEM). The chemical and crystalline structure of PMMA/FA fibrous scaffold were analyzed using fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), differential scanning calorimeter (DSC) and powder X-ray diffractometer (PXRD). The mechanical properties of PMMA/FA fibrous scaffold were analyzed using Texture analyzer. Water contact angle of PMMA/FA fibrous scaffold were analyzed using Drop shape analyzer. The percentage of folic acid content was analyzed using UV-Visible spectrophotometer. MTT assay is used to evaluate in vitro cytotoxic test of PMMA/FA fibrous scaffold with Schwann cells. The results indicated that the diameter of PMMA-120/FA fiber and PMMA-350/FA fiber mostly distributed around 600-800 nm and 1,200-1,600 nm respectively. PMMA-350/FA fiber was more rigid than PMMA-120/FA fiber. The fiber of PMMA/FA had poor wettability, amorphous form and its chemical structure was not destructive after electrospinning process. The percentage of folic content from both molecular weights were similar. PMMA/FA fiber established good biocompatibility with Schwann cell. Finally, PMMA/FA fiber has potential to be used in tissue engineering and may be studied more in the future.

Major Advisor.....

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยทางเภสัชศาสตร์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับความกรุณาอย่างสูงจาก  
ภก.ผศ.ดร.ณัฐธัญ เจริญศรีวิไลวัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัยที่กรุณาให้คำปรึกษาตลอดจนปรับปรุง  
แก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ด้วยความเอาใจใส่เป็นอย่างดี ผู้วิจัยตระหนักถึงความตั้งใจจริงและความทุ่มเท  
ของอาจารย์และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ ขอขอบพระคุณ ภก.สุภาพกรณ์ เจริญยิ่ง  
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมที่ให้คำปรึกษาเพิ่มเติมและให้คำแนะนำในการแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆในการทำ  
วิจัย ขอขอบพระคุณบุคลากรคณะเภสัชศาสตร์และคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาที่ให้ความ  
ช่วยเหลือในการทำงานวิจัยทุกๆ ด้าน และขอขอบพระคุณที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยและคณะเภสัช  
ศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ อนึ่ง ผู้วิจัยหวังว่างานวิจัยฉบับนี้จะมี  
ประโยชน์อยู่ไม่น้อย จึงขอมอบส่วนดีทั้งหมดนี้ให้แก่เหล่าคณาจารย์ที่ได้ประสิทธิประสาทวิชาจนทำ  
ให้ผลงานวิจัยเป็นผลประโยชน์ต่อผู้ที่เกี่ยวข้อง และสุดท้ายขอขอบพระคุณบิดามารดาและครอบครัวที่  
คอยสนับสนุนและให้กำลังใจในการศึกษาเล่าเรียนและการทำวิจัยเสมอมา

คณะผู้วิจัย

7 ธันวาคม 2561

| สารบัญ                                                     | หน้า |
|------------------------------------------------------------|------|
| คำนำ                                                       | ข    |
| บทคัดย่อ                                                   | ค    |
| ABSTRACT                                                   | ง    |
| กิตติกรรมประกาศ                                            | จ    |
| สารบัญตาราง                                                | ญ    |
| สารบัญรูปภาพ                                               | ฎ    |
| สารบัญภาคผนวก                                              | ฏ    |
| สารบัญตารางภาคผนวก                                         | ฅ    |
| สารบัญรูปภาพภาคผนวก                                        | ณ    |
| บทนำ                                                       | 1    |
| 1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา                               | 1    |
| 2. วัตถุประสงค์                                            | 3    |
| 3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ                               | 3    |
| วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง                                      | 4    |
| 1. นาโนเทคโนโลยีคืออะไร                                    | 4    |
| 2. เส้นใยนาโนคืออะไร                                       | 4    |
| 3. สารที่นำมาสังเคราะห์เป็นเส้นใยนาโน                      | 5    |
| 4. วิธีการผลิตเส้นใยนาโน                                   | 10   |
| 5. นาโนเทคโนโลยีกับการแพทย์แผนปัจจุบัน                     | 10   |
| 6. ท่อนำเส้นประสาท (Nerve Guidance Conduit)                | 11   |
| 6.1 ลักษณะโครงสร้างของท่อนำประสาท (nerve guidance channel) | 11   |
| 6.2 วิธีการสร้างท่อนำเส้นประสาท                            | 11   |
| 6.3 พอลิเมอร์ที่ US FDA อนุญาตให้ใช้                       | 14   |
| 7. วิศวกรรมเนื้อเยื่อ (tissue engineering)                 | 15   |
| 8. หลักการของอิเล็กโตรสปินนิง (Electrospinning)            | 15   |
| 8.1 อิเล็กโตรสปินนิงกับการนำไปใช้ในปัจจุบัน                | 16   |
| 8.2 ส่วนประกอบของเครื่องอิเล็กโตรสปินนิง                   | 16   |

|                                                                                                | หน้า |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 8.3 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการทำ                                                                     | 18   |
| 9. การตรวจสอบลักษณะทางกายภาพเคมีของเส้นใยนาโน                                                  | 19   |
| 9.1 ระดับโมเลกุล (Molecular level)                                                             | 19   |
| 9.2 ระดับพื้นผิว (Surface level)                                                               | 19   |
| 9.3 ระดับวัสดุ (Material level)                                                                | 20   |
| 10. หลักการเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์                                                           | 20   |
| 10.1 ฟลูอิดิฟิเคชันสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดสเปกโตรมิเตอร์ (FTIR)                                  | 20   |
| 10.2 เอกซเรย์ดิฟแฟรกชัน (x-ray diffraction)                                                    | 21   |
| 10.3 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV/VIS Spectrophotometer)                                        | 21   |
| 10.4 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM; scanning electron microscope)                   | 22   |
| 10.5 เครื่องวัดค่าความต่างความร้อนของสาร (DSC)                                                 | 23   |
| 10.6 เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture analyzer)                                            | 23   |
| 10.7 เครื่องวิเคราะห์ลักษณะการหยดตัวของของเหลว (Drop shape analyzer)                           | 23   |
| 11. พอลิเมทิลเมทาไครเลต (PMMA: Polymethyl methacrylate)                                        | 24   |
| 11.1 พอลิเมทิลเมทาไครเลตคืออะไร                                                                | 24   |
| 11.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับพอลิเมทิลเมทาไครเลต                                               | 24   |
| 11.3 สูตรโครงสร้าง (Structure)                                                                 | 27   |
| 11.4 สมบัติของสารทางเคมีและกายภาพของ (Chemical and physical properties) ของพอลิเมทิลเมทาไครเลต | 28   |
| 12. กรดโฟลิก (Folic acid)                                                                      | 28   |
| 12.1 กรดโฟลิก (Folic acid)                                                                     | 28   |
| 12.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกรดโฟลิก                                                          | 29   |
| 12.3 สูตรโครงสร้าง (Structure)                                                                 | 30   |
| 12.4 สมบัติของสารทางเคมีและกายภาพ (Chemical and physical properties) (48,49) ของกรดโฟลิก       | 31   |
| 12.5 การหาปริมาณกรดโฟลิกด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer                                   |      |
| วิธีดำเนินการวิจัย                                                                             | 33   |
| 1. การศึกษาข้อมูล ทบทวนวรรณกรรม                                                                | 33   |
| 2. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย                                                        | 33   |



|                                                                                                                                                                                             | หน้า |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 2.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง                                                                                                                                                                 | 33   |
| 2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย                                                                                                                                                                 | 33   |
| 3. ขั้นตอนการปฏิบัติงานในการวิจัย                                                                                                                                                           | 35   |
| 3.1 การเตรียมเส้นใยพอลิเมอร์ของพอลิเมทิลเมทาไครเลต และพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่ผสมกับกรดฟอลิก โดยใช้เครื่องอิเล็กทรอนิกส์                                                                      | 35   |
| 3.2 การทดสอบคุณลักษณะของเส้นใยพอลิเมอร์ของพอลิเมทิลเมทาไครเลต และพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่มีกรดฟอลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ                                                                        | 36   |
| 3.3 การตรวจสอบปริมาณกรดฟอลิกที่อยู่ในเส้นใย                                                                                                                                                 | 39   |
| 3.4 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ทางอ้อม (Indirect cytotoxic test)                                                                                                                            | 40   |
| ผลการวิจัย                                                                                                                                                                                  | 43   |
| 1. ศึกษาความเป็นไปได้เบื้องต้นของชนิดสารละลายพอลิเมอร์และความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ที่เหมาะสมก่อนเตรียมเป็นแผ่นเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่ผสมกับกรดฟอลิก                              | 43   |
| 2. ศึกษาคุณสมบัติของแผ่นเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตมวลโมเลกุล 120,000 ผสมกับกรดฟอลิก (PMMA-120/FA) และ พอลิเมทิลเมทาไครเลตมวลโมเลกุล 350,000 ผสมกับกรดฟอลิก (PMMA-350/FA) ณ ความเข้มข้นต่างๆ  | 48   |
| 2.1 ลักษณะทางกายภาพของแผ่นเส้นใย PMMA-120/FA และ PMMA-350/FA ที่ความเข้มข้นต่างๆ                                                                                                            | 48   |
| 2.2 ศึกษาพื้นฐานวิทยา ขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใยด้วยเครื่อง scanning electron microscope (SEM)                                                                                        | 49   |
| 3. ศึกษาหมู่โครงสร้างของพอลิเมทิลเมทาไครเลต เส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลต และ เส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่ผสมกับกรดฟอลิก ด้วยเครื่อง FTIR                                                       | 59   |
| 4. ผลการทดสอบการเปลี่ยนแปลงทางความร้อนของสารตัวอย่างโดยใช้เครื่อง Differential scanning calorimetry (DSC) เพื่อทดสอบคุณสมบัติความเข้ากัน (miscible blend) ของพอลิเมทิลเมทาไครเลตและกรดฟอลิก | 61   |
| 5. ผลการทดสอบรูปแบบโครงสร้างผลึกของเส้นใยด้วยเครื่อง Powder X-Ray Diffraction (PXRD)                                                                                                        | 62   |
| 6. ทดสอบคุณสมบัติเชิงกลด้วยเครื่อง Texture analyzer เพื่อหาค่าความเครียด ความเค้น และ โมดูลัสของยัง (young's modulus) ของแผ่นเส้นใย                                                         | 64   |
| 7. ผลการทดสอบความชอบน้ำของเส้นใย ด้วยเครื่อง Drop shape analyzer                                                                                                                            | 66   |
| 8. วิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญกรดฟอลิกที่อยู่ในแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์เส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่ความเข้มข้นต่างๆด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer คำนวณโดยหา % content              | 67   |

|                                                                                                                                                                                             | หน้า |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| 9. ผลการทดสอบความเป็นพิษโดยอ้อมของสารตัวอย่างต่อชวาน์เซลล์ด้วยวิธี MTT assay                                                                                                                | 68   |
| สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ                                                                                                                                                                | 70   |
| 1. ศึกษาความเป็นไปได้เบื้องต้นของชนิดสารละลายพอลิเมอร์และความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ที่เหมาะสมก่อนเตรียมเป็นแผ่นเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่ผสมกับกรดโฟลิก                              | 70   |
| 1.1 หาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ PMMA-120 ในสารละลาย DMF                                                                                                                                      | 70   |
| 1.2 หาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ PMMA-350 ในสารละลาย DMF                                                                                                                                      | 70   |
| 2. ศึกษาคุณสมบัติของแผ่นเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่ผสมกรดโฟลิกที่มีความเข้มข้นต่างๆ                                                                                                        | 71   |
| 2.1 ลักษณะทางกายภาพของแผ่นเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่ผสมกับกรดโฟลิกที่มีความเข้มข้นต่างๆของ PMMA-120 และ PMMA-350                                                                          | 71   |
| 2.2 ศึกษาพื้นฐานวิทยา ขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใยด้วยเครื่อง scanning electron microscope (SEM)                                                                                        | 71   |
| 3. ศึกษาหมู่โครงสร้างของผง PMMA เส้นใย PMMA และ PMMA/FA ด้วยเครื่อง fourier transform Infrared spectroscopy (FTIR)                                                                          | 72   |
| 4. ผลการทดสอบการเปลี่ยนแปลงทางความร้อนของสารตัวอย่างโดยใช้เครื่อง differential scanning calorimetry (DSC) เพื่อทดสอบคุณสมบัติความเข้ากัน (miscible blend) ของพอลิเมทิลเมทาไครเลตและกรดโฟลิก | 73   |
| 5. ผลการทดสอบรูปแบบโครงสร้างผลึกของเส้นใยด้วยเครื่อง powder X-ray diffraction (PXRD)                                                                                                        | 73   |
| 6. ทดสอบคุณสมบัติเชิงกลด้วยเครื่อง texture analyzer ของแผ่นเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตและเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่ผสมกับกรดโฟลิก มวลโมเลกุล 120,000 และ 350,000                            | 74   |
| 7. ผลการทดสอบความชอบน้ำด้วยเครื่อง Drop shape analyzer เส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตและเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่ผสมกับกรดโฟลิก มวลโมเลกุล 120,000 และ 350,000                                | 74   |
| 8. วิเคราะห์ปริมาณกรดโฟลิกที่สามารถผสมลงในแผ่นเส้นใย PMMA ที่ความเข้มข้นต่างๆด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer                                                                       | 74   |
| 9. ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารตัวอย่างต่อชวาน์เซลล์ด้วยวิธี MTT assay                                                                                                                       | 75   |
| เอกสารอ้างอิง                                                                                                                                                                               | 76   |
| ภาคผนวก                                                                                                                                                                                     | 83   |

## สารบัญตาราง

|                                                                                                                                                                    | หน้า |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ตารางที่ 1 สารละลายพอลิเมอร์ที่นำมาอิเล็กโทรสปิน                                                                                                                   | 5    |
| ตารางที่ 2 วิธีการสร้างท่อนำประสาท                                                                                                                                 | 11   |
| ตารางที่ 3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับพอลิเมทิลเมทาไครเลต                                                                                                             | 25   |
| ตารางที่ 4 สมบัติทางเคมีและกายภาพของ PMMA                                                                                                                          | 28   |
| ตารางที่ 5 สมบัติทางเคมีและกายภาพของกรดฟอลิก                                                                                                                       | 31   |
| ตารางที่ 6 ลักษณะทางกายภาพของแผ่นเส้นใย PMMA-120 ที่ความเข้มข้นต่างๆในตัวทำละลาย DMF                                                                               | 43   |
| ตารางที่ 7 ลักษณะทางกายภาพของแผ่นเส้นใย PMMA-350 ที่ความเข้มข้นต่างๆในตัวทำละลาย DMF                                                                               | 43   |
| ตารางที่ 8 ลักษณะและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเมื่อถ่ายภาพด้วย Scanning Electron Microscope (SEM) ของเส้นใย PMMA-120 ในความเข้มข้นต่างๆในสารละลาย DMF                   | 47   |
| ตารางที่ 9 ลักษณะและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเมื่อถ่ายภาพด้วย Scanning Electron Microscope (SEM) ของเส้นใย PMMA-350 ในความเข้มข้นต่างๆในสารละลาย DMF                   | 47   |
| ตารางที่ 10 แสดงภาพถ่ายลักษณะทางกายภาพของแผ่นเส้นใย PMMA-120/FA และ PMMA-350/FA ที่ผสมกับ กรดฟอลิก ณ ความเข้มข้น 0 % 0.15 % 0.25 % และ 0.35 % w/w                  | 48   |
| ตารางที่ 11 ลักษณะและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเมื่อถ่ายภาพด้วย Scanning Electron Microscope (SEM) ของเส้นใย PMMA-120/FA ณ ความเข้มข้น 0 % 0.15 % 0.25 % และ 0.35 % w/w | 49   |
| ตารางที่ 12 ลักษณะและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใย PMMA-350/FA ณ ความเข้มข้น 0 % 0.15 % 0.25 % และ 0.35 % w/w                                                     | 50   |
| ตารางที่ 13 แสดงถึงค่าความเค้นความเครียด และค่า Young's Modulus ของเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตเปรียบเทียบกับ เส้นใยที่ผสมกรดฟอลิก                                    | 65   |
| ตารางที่ 14 แสดงมุมของน้ำที่ทำกับแผ่นเส้นใย                                                                                                                        | 66   |
| ตารางที่ 15 ปริมาณสารสำคัญกรดฟอลิกที่สามารถบรรจุลงในแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินนิ่งเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่บรรจุกรดฟอลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ                        | 67   |

## สารบัญรูปภาพ

|                                                                                                                                                        | หน้า |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| รูปที่ 1 ส่วนประกอบของอิเล็กโทรสปิน                                                                                                                    | 17   |
| รูปที่ 2 ลักษณะการทำงานของเครื่องอิเล็กโทรสปิน                                                                                                         | 17   |
| รูปที่ 3 การเก็บตัวอย่างเส้นใย                                                                                                                         | 18   |
| รูปที่ 4 โครงสร้างโมเลกุลของพอลิเมทิลเมทาไครเลต                                                                                                        | 27   |
| รูปที่ 5 โครงสร้างโมเลกุลของกรดฟอลิก                                                                                                                   | 30   |
| รูปที่ 6 ลักษณะทางกายภาพ ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า ) และฮิสโทแกรมแสดงผลเส้นผ่านศูนย์กลาง<br>ของเส้นใย PMMA-120 ที่ความเข้มข้น 20 % w/w         | 44   |
| รูปที่ 7 ลักษณะทางกายภาพ ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า ) และฮิสโทแกรมแสดงผลเส้นผ่านศูนย์กลาง<br>ของเส้นใย PMMA-120 ที่ความเข้มข้น 23 % w/w         | 44   |
| รูปที่ 8 ลักษณะทางกายภาพ ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า ) และฮิสโทแกรมแสดงผลเส้นผ่านศูนย์กลาง<br>ของเส้นใย PMMA-120 ที่ความเข้มข้น 25 % w/w         | 45   |
| รูปที่ 9 ลักษณะทางกายภาพ ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า ) และฮิสโทแกรมแสดงผลเส้นผ่านศูนย์กลาง<br>ของเส้นใย PMMA-350 ที่ความเข้มข้น 13 % w/w         | 45   |
| รูปที่ 10 ลักษณะทางกายภาพ ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า ) และฮิสโทแกรมแสดงผลเส้นผ่านศูนย์กลาง<br>ของเส้นใย PMMA-350 ที่ความเข้มข้น 14 % w/w        | 46   |
| รูปที่ 11 ลักษณะทางกายภาพ ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า ) และฮิสโทแกรมแสดงผลเส้นผ่านศูนย์กลาง<br>ของเส้นใย PMMA-350 ที่ความเข้มข้น 15 % w/w        | 46   |
| รูปที่ 12 ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า ) เส้นใย PMMA-120/FA ความเข้มข้น 0% เปรียบเทียบระหว่าง<br>non alignment และ alignment                      | 51   |
| รูปที่ 13 กราฟเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและองค์การจัดเรียงของเส้นใย PMMA-120/FA ความเข้มข้น<br>0% เปรียบเทียบระหว่าง non alignment และ alignment | 51   |
| รูปที่ 14 ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า ) เส้นใย PMMA-120/FA ความเข้มข้น 0.15 % เปรียบเทียบ<br>ระหว่าง non alignment และ alignment                 | 52   |

|                                                                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| รูปที่ 15 กราฟเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและองค์การจัดเรียงของเส้นใย PMMA-120/FA ความเข้มข้น 0.15 % ระหว่าง non alignment และ alignment | 52 |
| รูปที่ 16 ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า) เส้นใย PMMA-120/FA ความเข้มข้น 0.25 % เปรียบเทียบระหว่าง non alignment และ alignment            | 53 |
| รูปที่ 17 กราฟเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและองค์การจัดเรียงของเส้นใย PMMA-120/FA ความเข้มข้น 0.25 % ระหว่าง non alignment และ alignment | 53 |
| รูปที่ 18 ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า) เส้นใย PMMA-120/FA ความเข้มข้น 0.35 % เปรียบเทียบระหว่าง non alignment และ alignment            | 54 |
| รูปที่ 19 กราฟเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและองค์การจัดเรียงของเส้นใย PMMA-120/FA ความเข้มข้น 0.35 % ระหว่าง non alignment และ alignment | 54 |
| รูปที่ 20 ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า) เส้นใย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 0 % เปรียบเทียบระหว่าง non alignment และ alignment               | 55 |
| รูปที่ 21 กราฟเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและองค์การจัดเรียงของเส้นใย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 0 % non alignment และ alignment            | 55 |
| รูปที่ 22 ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า) เส้นใย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 0.15 % เปรียบเทียบระหว่าง non alignment และ alignment            | 56 |
| รูปที่ 23 กราฟเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและองค์การจัดเรียงของเส้นใย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 0.15 % ระหว่าง non alignment และ alignment | 56 |
| รูปที่ 24 ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า) เส้นใย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 0.25 % เปรียบเทียบระหว่าง non alignment และ alignment            | 57 |
| รูปที่ 25 กราฟเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและองค์การจัดเรียงของเส้นใย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 0.25 % ระหว่าง non alignment และ alignment | 57 |
| รูปที่ 26 ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า) เส้นใย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 0.35 % เปรียบเทียบระหว่าง non alignment และ alignment            | 58 |

|                                                                                                                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| รูปที่ 27 กราฟเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 0.35 % ระหว่าง non alignment และ alignment                                        | 58 |
| รูปที่ 28 กราฟเปรียบเทียบระหว่างผง PMMA และเส้นใย PMMA-120                                                                                                        | 59 |
| รูปที่ 29 กราฟเปรียบเทียบระหว่างผง PMMA และเส้นใย PMMA-350                                                                                                        | 59 |
| รูปที่ 30 กราฟเปรียบเทียบระหว่างผงกรดโฟลิก เส้นใย PMMA-120/FA และเส้นใย PMMA-120                                                                                  | 60 |
| รูปที่ 31 กราฟเปรียบเทียบระหว่างผงกรดโฟลิก เส้นใย PMMA-350/FA และเส้นใย PMMA-350                                                                                  | 60 |
| รูปที่ 32 กราฟระหว่างอุณหภูมิและอัตราความร้อน แสดงการเปรียบเทียบระหว่างผงกรดโฟลิก เส้นใย เส้นใย PMMA-120 เส้นใย PMMA-350 เส้นใย PMMA-120/FA และเส้นใย PMMA-350/FA | 61 |
| รูปที่ 33 กราฟแสดงการเปรียบเทียบรูปแบบโครงสร้างผลึกระหว่างผงกรดโฟลิก เส้นใย PMMA-120/FA และเส้นใย PMMA-120                                                        | 62 |
| รูปที่ 34 กราฟแสดงการเปรียบเทียบรูปแบบโครงสร้างผลึกระหว่างผงกรดโฟลิก เส้นใย PMMA-350/FA และ เส้นใย PMMA-350                                                       | 63 |
| รูปที่ 35 กราฟแสดงความเค้นความเครียดของเส้นใย PMMA-120 เทียบ PMMA-120/FA                                                                                          | 64 |
| รูปที่ 36 กราฟแสดงความเค้นความเครียดของเส้นใย PMMA-350 เทียบ PMMA-350/FA                                                                                          | 65 |
| รูปที่ 37 ภาพถ่ายหยดน้ำที่อยู่บนเส้นใย                                                                                                                            | 66 |
| รูปที่ 38 กราฟแสดงร้อยละการมีชีวิตของชวาน์เซลล์ในเส้นใย PMMA-120/FA ที่ความเข้มข้น 0.25 % w/w                                                                     | 68 |
| รูปที่ 39 กราฟแสดงร้อยละการมีชีวิตของชวาน์เซลล์ในเส้นใย PMMA-350/FA ที่ความเข้มข้น 0.25 % w/w                                                                     | 68 |

## สารบัญภาคผนวก

|                                                                            | หน้า |
|----------------------------------------------------------------------------|------|
| 1. ภาพถ่ายลักษณะทางกายภาพเมื่อมองด้วยตาเปล่า                               | 83   |
| 2. ภาพถ่ายลักษณะทางกายภาพเมื่อผ่านกล้อง Scanning electron microscope (SEM) | 83   |
| 2. การหาปริมาณกรดโฟลิกที่สามารถปลดปล่อย (%content)                         | 85   |
| 3. กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชวานันเซลล์                            | 86   |
| 4. สถิติ                                                                   | 90   |

## สารบัญตารางภาคผนวก

หน้า

|                                                                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ตารางที่ 1 แสดงสถิติ One-way ANOVA ของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย PMMA-120 ความเข้มข้น 20 % 23 % และ 25 % w/w    | 90 |
| ตารางที่ 2 แสดงสถิติ One-way ANOVA ของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย PMMA-350 ความเข้มข้น 13 % 14 % และ 15 % w/w    | 90 |
| ตารางที่ 3 แสดงสถิติ One-way ANOVA ของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 13 % 14 % และ 15 % w/w | 90 |
| ตารางที่ 4 แสดงสถิติ One-way ANOVA ของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 13 % 14 % และ 15 % w/w | 91 |
| ตารางที่ 5 แสดงสถิติ t-Test ของ %content PMMA-120/FA เปรียบเทียบระหว่างความเข้มข้น 0.25 % และ 0.35 % w/w         | 91 |
| ตารางที่ 6 แสดงสถิติ t-Test ของ % content PMMA-350/FA เปรียบเทียบระหว่างความเข้มข้น 0.25 % และ 0.35 % w/w        | 92 |
| ตารางที่ 7 แสดงสถิติ t-Test ของ % content PMMA/FA 0.25 % w/w เปรียบเทียบระหว่างมวลโมเลกุล 120,000 และ 350,000    | 93 |
| ตารางที่ 8 แสดงสถิติ t-Test ของ % content PMMA/FA 0.35 % w/w เปรียบเทียบระหว่างมวลโมเลกุล 120,000 และ 350,000    | 94 |
| ตารางที่ 9 แสดงสถิติ one way ANOVA ของร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์ในกลุ่มตัวอย่าง เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม      | 94 |



## สารบัญรูปภาพภาคผนวก

|                                                                                                                                                                                                   | หน้า |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| รูปที่ 1 ภาพถ่ายลักษณะทางกายภาพเมื่อมองด้วยตาเปล่า                                                                                                                                                | 83   |
| รูปที่ 2 ภาพถ่ายตัดขวางที่ผ่านการม้วนของแผ่นเส้นใย PMMA/FA จากกล้อง Scanning Electron Microscope (SEM)                                                                                            | 83   |
| รูปที่ 3 ภาพถ่ายด้านบนที่ผ่านการม้วนของแผ่นเส้นใยแบบ non alignment ของแผ่นเส้นใย PMMA/FA จากกล้อง Scanning Electron Microscope (SEM)                                                              | 84   |
| รูปที่ 4 ภาพถ่ายด้านบนที่ผ่านการม้วนของแผ่นเส้นใยแบบ alignment ของแผ่นเส้นใย PMMA/FA จากกล้อง Scanning Electron Microscope (SEM)                                                                  | 84   |
| รูปที่ 5 กราฟมาตรฐาน (standard curve) ของกรดโฟลิก                                                                                                                                                 | 85   |
| รูปที่ 6 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของชวานน์เซลล์ในสารละลายที่มีเส้นใย PMMA-120/FA ที่เจือจางเป็น 1 mg/ml 2.5 mg/ml 5 mg/ml 7.5 mg/ml และ 10 mg/ml และตัวอย่างควบคุม                        | 86   |
| รูปที่ 7 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของชวานน์เซลล์ในสารละลายที่มีเส้นใย PMMA-120/FA ที่ความเข้มข้น 0.15 % ที่เจือจางเป็น 1 mg/ml 2.5 mg/ml 5 mg/ml 7.5 mg/ml และ 10 mg/ml และตัวอย่างควบคุม  | 86   |
| รูปที่ 8 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของชวานน์เซลล์ในสารละลายที่มีเส้นใย PMMA-120/FA ที่ความเข้มข้น 0.25 % ที่เจือจางเป็น 1 mg/ml 2.5 mg/ml 5 mg/ml 7.5 mg/ml และ 10 mg/ml และตัวอย่างควบคุม  | 87   |
| รูปที่ 9 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของชวานน์เซลล์ในสารละลายที่มีเส้นใย PMMA-120/FA ที่ความเข้มข้น 0.35 % ที่เจือจางเป็น 1 mg/ml 2.5 mg/ml 5 mg/ml 7.5 mg/ml และ 10 mg/ml และตัวอย่างควบคุม  | 87   |
| รูปที่ 10 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของชวานน์เซลล์ในสารละลายที่มีเส้นใย PMMA-350/FA ที่เจือจางเป็น 1 mg/ml 2.5 mg/ml 5 mg/ml 7.5 mg/ml และ 10 mg/ml และตัวอย่างควบคุม                       | 88   |
| รูปที่ 11 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของชวานน์เซลล์ในสารละลายที่มีเส้นใย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 0.15% w/w ที่เจือจางเป็น 1 mg/ml 2.5 mg/ml 5 mg/ml 7.5 mg/ml และ 10 mg/ml และตัวอย่างควบคุม | 88   |

รูปที่ 12 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของชวานน์เซลล์ในสารละลายที่มีเส้นใย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 0.25% w/w ที่เจือจางเป็น 1 mg/ml 2.5 mg/ml 5 mg/ml 7.5 mg/ml และ 10 mg/ml และตัวอย่างควบคุม

89

รูปที่ 13 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของชวานน์เซลล์ในสารละลายที่มีเส้นใย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 0.35% w/w ที่เจือจางเป็น 1 mg/ml 2.5 mg/ml 5 mg/ml 7.5 mg/ml และ 10 mg/ml และตัวอย่างควบคุม

89

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

การบาดเจ็บของเส้นประสาทส่วนปลาย (peripheral nerve injury) เป็นปัญหาใหญ่ที่พบและส่งผลต่อคนมากกว่า 1 ล้านคนทั่วโลก(1) โดยสาเหตุการบาดเจ็บของเส้นประสาทส่วนปลายเกิดจากอุบัติเหตุทางถนนเป็นหลัก(2) และประมาณ 5 % ของการเกิดบาดแผลที่แขนหรือขาจะเกี่ยวข้องกับ การบาดเจ็บของเส้นประสาทส่วนปลาย โดยปกติเส้นประสาทสามารถรักษาตัวเองได้ในอัตรา 1-3 มิลลิเมตร ต่อวัน ซึ่งทำให้ใช้เวลาประมาณ 2-3 อาทิตย์เพื่อจะรักษาเส้นประสาทที่จะมีการฉีกขาด ประมาณ 1 เซนติเมตร ถ้าเส้นประสาทขาดมากกว่า 2 เซนติเมตร จะไม่สามารถรักษาตัวเองได้ ซึ่งปัจจุบันมีการรักษาเส้นประสาทส่วนปลายฉีกขาดทั้งหมด 3 วิธี(3) คือ วิธีที่ 1 คือ การต่อเส้นประสาท เส้นเดิมโดยตรงด้วยการเย็บ จะมีข้อจำกัดคือสามารถต่อเส้นประสาทที่มีช่องว่างไม่เกิน 5 มิลลิเมตร เพราะจะเกิดแรงดึงขณะต่อเส้นประสาท(1) ส่วนวิธีที่ 2 คือ การปลูกถ่ายแบบออโตกราฟท์(autograft transplantation) ใช้เส้นประสาทที่รับความรู้สึกจากผิวหนังของตัวผู้ป่วยเองตัดมาเชื่อมต่อปลาย เส้นประสาทซึ่งอยู่ห่างจากกัน (nerve gap) และลดแรงดึงลง ซึ่งวิธีนี้เป็นแนวทางการรักษาหลักในปัจจุบัน(4) มีอัตราการประสบความสำเร็จคือ 40-50 % (3) แต่ข้อเสียของวิธีนี้คือต่อได้เพียง เส้นประสาทรับความรู้สึก (sensory nerve) ไม่สามารถต่อเส้นประสาทสั่งการได้ (motor nerve) การสูญเสียความรู้สึกจากตำแหน่งที่ตัดเส้นประสาทมาและต้องใช้อากดภูมิคุ้มกันนานถึง 18 เดือน รวมถึงมีความเป็นไปได้ที่ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นประสาทจะไม่ตรงกันกับเส้นประสาทที่เสียหาย(1) โดยวิธีนี้มีข้อจำกัดคือระยะห่างของการต่อเส้นประสาทไม่เกิน 5 เซนติเมตร และวิธีสุดท้ายคือ การเย็บ ผ่านท่อนำประสาท (nerve guidance conduit, NGC) โดยหลักการคล้ายคลึงกับวิธีเนื้อเยื่อปลูกถ่าย ให้ตนเอง แต่ใช้ท่อนำประสาทสังเคราะห์แทน(5) โดยวิธีนี้มีข้อดีคือ แอกซอน (axon) จะเจริญเติบโตไปในทางเดียวกัน ลดแผลเป็นที่เกิดจากการผ่าตัดและสามารถสะสมโกรทแฟคเตอร์ (growth Factor) ที่หลังของเซลล์ประสาทที่ฉีกขาด ซึ่งโกรทแฟคเตอร์ มีหน้าที่ทำให้เซลล์ประสาทเจริญเติบโตได้ดีขึ้น (2) การทำท่อนำประสาทมีหลายวิธี (3) ได้แก่ การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze-drying), porogen

leaching thermally induced phase separation (TIPS), non solvent induced phase separation (NIPS), rapid prototyping (Rp) และอิเล็กโตรสปินนิง (electrospinning) แต่อย่างไรก็ตาม Food and Drug Administration (FDA) ของสหรัฐอเมริกา ไม่แนะนำให้ใช้ NGC ถ้าเส้นประสาทมีการฉีกขาดมากกว่า 3 เซนติเมตร และยังมีโอกาสประสบความสำเร็จในการรักษาต่ำกว่าการปลูกถ่ายแบบออโตกราฟฟิอีกด้วย(3)

อิเล็กโตรสปินนิงเป็นกระบวนการที่ง่าย และสามารถผลิตเส้นใยที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดนาโนหรือไมโครได้ และวิธีนี้สามารถผลิตเส้นใยที่มีลักษณะเหมือนมาทริกซ์นอกเซลล์ (extracellular matrix) (6) จึงมีหลายงานวิจัยนำพอลิเมอร์ต่างๆ ได้แก่ ซิลิโคน (silicone), พอลิเตตระฟลูออโรเอทิลีน หรือเทฟลอน (polytetrafluoroethylene: PTFE) พอลิไกลโคลิกแอซิด (polyglycolic acid, PGA) พอลิแลคไทด์โคคาโพรแลคโตน (polylactide-co-caprolactone, PLCL) และ คอลลาเจน (collagen) มาใช้ทำท่อประสาทด้วยกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง แต่อย่างไรก็ตามพอลิเมอร์ที่กล่าวข้างต้นยังมีข้อจำกัดทางด้านประสิทธิภาพและความปลอดภัย พอลิเมทิลเมทาไครเลตเป็นพอลิเมอร์ที่มีคุณสมบัติที่ดี เช่น ไม่เป็นพิษและสามารถเข้ากับร่างกายของมนุษย์ได้ ราคาไม่แพง และมีความทนทาน (7) โดยมีการนำพอลิเมทิลเมทาไครเลตไปใช้ทำรากฟันเทียมและซีเมนต์กระดูก (bone cement) ซึ่งในงานวิจัยของ Haijian และคณะ ปี ค.ศ. 2016 ได้นำพอลิเมทิลเมทาไครเลตผ่านกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง มาเลี้ยงเซลล์ชวาน (schwann cell) ที่เป็นส่วนหนึ่งของระบบประสาทเพื่อให้เซลล์ประสาทสามารถต่อกันได้ดีขึ้น(8) อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพของอิเล็กโตรสปินนิงพอลิเมทิลเมทาไครเลต ยังมีการศึกษาน้อย คณะผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาการเตรียมอิเล็กโตรสปินนิงพอลิเมทิลเมทาไครเลตเพิ่มเติมโดยเพิ่มสารที่ช่วยในการซ่อมแซมเซลล์ประสาท เช่น โกรทแฟคเตอร์ และกรดโฟลิก เป็นต้น Ahmet และคณะ ปี ค.ศ. 2015 พบว่ากรดโฟลิกมีฤทธิ์ช่วยในการรักษาการบาดเจ็บของเส้นประสาทในหนูได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยังช่วยในการสร้างเยื่อไมอีลิน (myelin sheath) อีกด้วย (9)

โดยงานวิจัยนี้คณะผู้วิจัยจะศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อสัญญาณวิทยาของเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่มีกรดโฟลิกที่เตรียมโดยอิเล็กโตรสปินนิง และศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่มีกรดโฟลิก ได้แก่ ศึกษาสัญญาณวิทยาของเส้นใยด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope, SEM) คุณสมบัติทางเคมีด้วยเครื่องฟู

เรย์ทราสฟอรัมอินฟราเรด (infrared spectroscopy, FT-IR) คุณสมบัติภายใต้ความร้อนด้วยเครื่องดิฟเฟอเรนเชียลสแกนนิ่งแคลอริมิเตอร์ (differential scanning calorimetry, DSC) ความเป็นผลึกของเส้นใยเครื่องเอกซ์เรย์ดิฟแฟรคชัน (X-ray diffractometer) คุณสมบัติเชิงกลโดยเครื่องมือการวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (texture analyzer) วิเคราะห์ลักษณะการหยดตัวของของเหลวบนเส้นใย ด้วยเครื่อง drop shape analyzer ปริมาณกรดโฟลิกและการปลดปล่อยออกจากเส้นใยโดยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV Spectrophotometer)(10)

## 2. วัตถุประสงค์

- 2.1 เพื่อศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อสัณฐานวิทยาของเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่มีกรดโฟลิกที่เตรียมโดยอิเล็กโทรสปินนิง
- 2.2 เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่มีกรดโฟลิกสำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อ

## 3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 3.1 ทราบถึงปัจจัยที่ส่งผลต่อสัณฐานวิทยาของเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่เตรียมโดยอิเล็กโทรสปินนิง
- 3.2 ทราบถึงคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของ เส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่มีกรดโฟลิกสำหรับวิศวกรรมเนื้อเยื่อ

## บทที่ 2

### วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

#### 1. นาโนเทคโนโลยีคืออะไร

ตามศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ (11) ได้ให้คำนิยาม คำว่า “นาโน (Nano)” ว่าเป็นคำที่มีรากศัพท์ มาจากภาษากรีกว่า Nanos ซึ่งแปลว่าแคระหรือเล็ก เมื่อนำคำว่า นาโน มาใช้นำหน้าหน่วย วัดทางวิทยาศาสตร์หรือคณิตศาสตร์ หมายถึง ขนาดเศษหนึ่งส่วนพันล้าน ส่วนของหน่วยวัดนั้น ส่วนคำว่านาโนเทคโนโลยี หมายถึง เทคโนโลยีประยุกต์ซึ่งเกี่ยวข้องกับการจัดการ การสร้าง การสังเคราะห์ วัสดุหรืออุปกรณ์ในระดับของอะตอม โมเลกุลหรือชิ้นส่วน ที่มีขนาดเล็กในช่วง ประมาณ 1 ถึง 1000 นาโนเมตร

#### 2. เส้นใยนาโนคืออะไร

เส้นใยนาโน (nanofiber) เป็นเส้นใยที่มีขนาดเล็กในระดับ 1 นาโนเมตร ถึงระดับ 1000 นาโนเมตร ทำให้มีข้อดีคือ มีอัตราส่วนระหว่างพื้นผิวต่อปริมาตร (surface-to-volume ratio) สูง นอกจากนี้ เส้นใยนาโนจะมีขนาดของรูพรุนเล็ก ส่งผลทำให้มีสมบัติพิเศษต่างๆ เช่น สมบัติเชิงกล สมบัติทางไฟฟ้า หรือสมบัติทางชีวภาพ เหมาะสำหรับงานเฉพาะด้านที่ต้องการความได้เปรียบของขนาดที่มีขนาดเล็กมากๆ ทั้งนี้ขึ้นกับวิธีและสารที่นำมาใช้สังเคราะห์ (11), (12)

### 3. สารที่นำมาสังเคราะห์เป็นเส้นใยนาโน

ตารางที่ 1 สารละลายพอลิเมอร์ที่นำมาอิเล็กทรอนิกส์ (13),(14)

| ลำดับ | พอลิเมอร์              | สารละลาย                                                                                                                                                                           | ความเข้มข้น                                     | การนำไปใช้                                             |
|-------|------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| 1     | Nylon6,6, PA-6,6       | Formic acid                                                                                                                                                                        | 10 % w/w                                        | Protective clothing                                    |
| 2     | Polyurethanes, PU      | Dimethyl formamide                                                                                                                                                                 | 10 % w/w                                        | Protective clothing<br>Electret filter                 |
| 3     | Polybenzimidazole, PBI | Dimethyl acetamide                                                                                                                                                                 | 10 % w/w                                        | Protective clothing<br>nanofiber reinforced composites |
| 4     | Polycarbonate, PC      | Dimethyl formamide: tetrahydrofuran (1:1)<br>Dichloromethane<br>Chloroform, tetrahydrofuran<br>Dimethylformamide: tetrahydrofuran (1:1)<br>Dimethylformamide:tetrahydrofuran (1:1) | 10 % w/w<br>15 % w/w<br>14–15 % w/w<br>20 % w/w | Protective clothing Sensor, filter<br>Electret filter  |
| 5     | Polyacrylonitrile, PAN | Dimethyl formamide                                                                                                                                                                 | 15 % w/w                                        | Carbon nanofiber                                       |

| ลำดับ | พอลิเมอร์                                                          | สารละลาย                                                                                                  | ความเข้มข้น                            | การนำไปใช้                                                                                    |
|-------|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| 6     | Polyvinil alcohol, PVA                                             | Distilled water<br>Distilled water                                                                        | 8–16 % w/w<br>4–10 % w/w<br>1–10 % w/w |                                                                                               |
| 7     | Polylactic acid, PLA                                               | Dimethyl formamide<br>Methylene chloride and Dimethyl formamide<br><br>Dichloromethane<br>Dichloromethane | <br><br><br>5 % w/w<br>14 % w/w        | Membrane for prevention of surgery induced-adhesion<br>Sensor, Filter<br>Drug delivery system |
| 8     | Polyethylene-co-vinyl acetate, PEVA                                | -                                                                                                         | -                                      | Drug delivery system                                                                          |
| 9     | PEVA/PLA                                                           | -                                                                                                         | -                                      | Drug delivery system                                                                          |
| 10    | Polymethacrylate (PMMA)<br>/Tetrahydroperfluorooctyl acrylate(TAN) | Dimethyl formamide : toluene (1:9)                                                                        | -                                      | -                                                                                             |



| ลำดับ | พอลิเมอร์               | สารละลาย                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | ความเข้มข้น                                                                                                                    | การนำไปใช้                                                                                                  |
|-------|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 11    | Polyethylene oxide, PEO | Distilled water<br>Distilled water<br>Distilled water and ethanol or NaCl<br>Distilled water, distilled water<br>chloroform, distilled water and<br>isopropanol<br>Distilled water: ethanol (3:2)<br>Distilled water, chloroform, acetone,<br>water<br>Isopropyle alcohol+water,<br>Isopropanol: water (6:1)<br>Isopropanol: water (6:1)<br>Chloroform | 7–10 % w/w<br>4–10 % w/w<br>1–4.3 %<br>w/w<br>4 % w/w<br>4–10 % w/w<br>1–10 % w/w<br>10 % w/w<br>3–10 % w/w<br>0.5–30 %<br>w/w | Microelectronic<br>wiring,<br>Interconnects<br><br><br><br><br><br>Electret filter                          |
| 12    | Collagen-PEO            | Hydrochloric acid<br><br>Hydrochloric acid (pH =2.0)                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 1–2 % w/w<br><br>1 % w/w                                                                                                       | Wound healing,<br>tissue<br>engineering,<br>hemostatic<br>agents<br>wound healing,<br>tissue<br>engineering |

| ลำดับ | พอลิเมอร์                                                  | สารละลาย                                                                            | ความเข้มข้น               | การนำไปใช้            |
|-------|------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|-----------------------|
| 13    | Polyaniline<br>(PANI) /PEO<br>blend                        | Chloroform                                                                          | 2–4 % w/w                 | Conducting fiber      |
| 14    | Polyaniline<br>(PANI)/<br>Polystyrene<br>(PS)              | Camphorsulfonic acid 2 % w/w                                                        | 2 % w/w                   | Conductive fiber      |
| 15    | Silk-like<br>polymer with<br>fibronectin<br>functionality  | Formic acid                                                                         | 0.8–16.2 %<br>w/w         | Implantable<br>device |
| 16    | Polyvinylcarbaz<br>ole                                     | Dichlormethane                                                                      | 7.5 % w/w                 | Sensor, filter        |
| 17    | Polyethylene<br>Terephthalate,<br>PET                      | Dichlormethane and trifluoroacetic<br>Dichloromethane:trifluoroacetic acid<br>(1:1) | 4 % w/w<br>12–18 %<br>w/w |                       |
| 18    | Polyacrylic<br>acid-<br>polypyrene<br>methanol, PAA-<br>PM | Dimethyl formamide                                                                  | -                         | Optical sensor        |

| ลำดับ | พอลิเมอร์                                                                       | สารละลาย                                                                                                                                                                                             | ความเข้มข้น                                                               | การนำไปใช้                                                                        |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| 19    | Polystyrene, PS                                                                 | Tetrahydrofuran, dimethylformamide,<br>CS <sub>2</sub> (carbon disulfide), toluene,<br>Methylethylketone<br>Chloroform, dimethylformamide<br>Tetrahydrofuran<br>Dimethylformamide<br>Tetrahydrofuran | 18–35 %<br>w/w<br><br>8%<br>2.5–10.7%<br>25 % w/w<br>30 % w/w<br>15 % w/w | -<br><br>Enzymatic<br>biotransformation<br><br>(Flat ribbons)<br>Catalyst, filter |
| 20    | Polymethacrylate, PMMA                                                          | Tetrahydrofuran, acetone, chloroform                                                                                                                                                                 | -                                                                         | -                                                                                 |
| 21    | Polyamide, PA                                                                   | Dimethylacetamide                                                                                                                                                                                    | -                                                                         | Glass fiber filter media                                                          |
| 22    | Silk/PEO blend                                                                  | Silk aqueous solutions                                                                                                                                                                               | 4.8–8.8 %<br>w/w                                                          | Biomaterial scaffolds                                                             |
| 23    | poly vinyl phenol, PVP                                                          | Tetrahydrofuran                                                                                                                                                                                      | 20, 60 %                                                                  | Antimicrobial agent                                                               |
| 24    | Cellulose acetate, CA                                                           | Acetone, acetic acid, dimethylacetamide                                                                                                                                                              | 12.5–20 %                                                                 | Membrane                                                                          |
| 25    | Mixture of PAA-PM (polyacrylic acid – poly (pyrene methanol) ) and polyurethane | Dimethylformamide                                                                                                                                                                                    | 26 % w/w                                                                  | Optical sensor                                                                    |

#### 4. วิธีการผลิตเส้นใยนาโน

Kiyak และคณะ (15) ได้มีการทำทบทวนวรรณกรรมอย่างเป็นระบบโดยได้จำแนกวิธีการผลิตเส้นใยนาโนดังนี้

- 4.1 Gas jacket electrospinning
- 4.2 Bubble electrospinning
- 4.3 Magneto electrospinning
- 4.4 Conjugate electrospinning
- 4.5 Co-axial electrospinning
- 4.6 Needles electrospinning
- 4.7 Centrifugal electrospinning
- 4.8 Wet spinning
- 4.9 Drawing
- 4.10 Template synthesis
- 4.11 Phase separation
- 4.12 Self-assembly
- 4.13 Splittable biocompatible fibers

#### 5. นาโนเทคโนโลยีกับการแพทย์แผนปัจจุบัน

ปัจจุบันพบว่าการใช้นาโนเทคโนโลยีเป็นอย่างมาก โดยมีการนำเทคโนโลยีทางด้านนาโนมาใช้วินิจฉัยป้องกัน รักษาโรค เนื่องจากคุณสมบัติพิเศษของนาโนที่มีขนาดเล็ก พื้นที่ผิวมาก ทำให้สามารถแทรกซึมผ่านเซลล์ และเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษา ยกตัวอย่างเช่น มีการใช้เทคโนโลยีนานาโนในการทำยา control released ของโรคหืด (asthma) เพื่อชะลอการปลดปล่อยของยา มีการทำนาโนเซนเซอร์ในการตรวจจกระดับน้ำตาลในเลือดซึ่งเทคโนโลยีนี้นำมาใช้ในทางทหาร และมีการพัฒนาในการเคลือบไททาเนียมด้วย nano tube ซึ่งเปรียบเสมือน collagen ในการดึงดูด osteoblast ให้มาประสานข้อต่อที่สะโพก นอกเหนือจากนี้มีการใช้ nanorobot ในทางทันตกรรมอีกด้วย (16) และการทำท่อนำประสาทโดยใช้ nerve guidance conduit (NGC) เพื่อนำไปเลี้ยงเซลล์ประสาท (3)

## 6. ท่อนำเส้นประสาท (Nerve Guidance Conduit) (3)

Nerve Guidance Conduit (NGC) เป็นนวัตกรรมใหม่ทางการแพทย์ที่ใช้ท่อที่ทำมาจากโพลิเมอร์เพื่อช่วยสร้างเส้นประสาทใหม่ ในการออกแบบท่อนำประสาท(nerve guidance channel : NGC) ต้องคำนึงถึงความสามารถเข้าออกของสารน้ำ และออกซิเจนเพื่อนำไปเลี้ยงเซลล์ประสาทที่กำลังสร้างให้เซลล์ประสาทเจริญเติบโตดังนั้นเราจะต้องมีลักษณะโครงสร้างของท่อดังนี้

### 6.1 ลักษณะโครงสร้างของท่อนำประสาท (nerve guidance channel) (3)

ท่อนำประสาทที่ดี ต้องมีขนาดรูที่เหมาะสมในการให้สารอาหาร น้ำและออกซิเจนเข้าออกได้โดยขนาดของรูท่อนำประสาทสามารถมีขนาด 5-30  $\mu\text{m}$  โดยขนาดที่ต้องการประมาณ 10-20  $\mu\text{m}$  เพื่อป้องกันไม่ให้สารพวกโกรทแฟคเตอร์ (Growth factor) ออกไป หรือ ไฟโบรบลาสต์ (fibroblast) เข้าจับกับท่อนำประสาทแทน ต้องมีความพรุนที่เหมาะสมกับการเคลื่อนย้ายของเซลล์ และต้องมีความบางซึ่งจะทำให้เพิ่มการเข้ามาของออกซิเจนและสารอาหาร

### 6.2 วิธีการสร้างท่อนำเส้นประสาท

ตารางที่ 2 วิธีการสร้างท่อนำประสาท (3)

| เทคนิค          | พารามิเตอร์                                                                                                                                                                                                 | เปอร์เซ็นต์ความพรุน (%) | ขนาดรู ( $\mu\text{m}$ ) |
|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|--------------------------|
| Electrospinning | <ul style="list-style-type: none"><li>- ความเข้มข้นของสารละลาย (Solution concentration)</li><li>- สนามไฟฟ้า (Electric field)</li><li>- ชนิดของตัวเก็บสาร (Collector) ระยะห่างระหว่างปลายกระบอกรีด</li></ul> | 58-95                   | 1-10 $\mu\text{m}$       |

| เทคนิค                                   | พารามิเตอร์                                                                                                                                                                                                                                                        | เปอร์เซ็นต์ความพรุน(%) | ขนาดรู(μm)                                           |
|------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|------------------------------------------------------|
| Electrospinning                          | กัปเดตั้วเก็บสาร (Syringe tip-collector distance)                                                                                                                                                                                                                  |                        |                                                      |
| Porogen leaching                         | <ul style="list-style-type: none"> <li>- ปริมาณของพอลิเมอร์ (Porogen amount) เกล็ด หรือ พอลิเมอร์</li> <li>- ขนาดของผลึกเกล็ดพอลิเมอร์ (Size of porogen salt crystals)</li> <li>- ความเข้ากันได้ของพอลิเมอร์ที่ผสมกัน (Compatibility of polymer blends)</li> </ul> | 80-90                  | 0.9-5 μm<br>(poly ethylene glycol; PEG)<br>10-300 μm |
| Freeze-Drying                            | <ul style="list-style-type: none"> <li>- ความเข้มข้นของสารละลาย (Solution concentration)</li> <li>- อุณหภูมิแช่แข็ง (Freezing temperature)</li> <li>- การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิขนาดแช่แข็ง (temperature gradient during Freezing)</li> </ul>                       | ~90                    | 10-300 μm                                            |
| Thermally induced phase separation(TIPS) | <ul style="list-style-type: none"> <li>- ความเข้มข้นของสารละลาย (Solution concentration)</li> </ul>                                                                                                                                                                | 85-90                  | 15-140 μm                                            |

| เทคนิค                                     | พารามิเตอร์                                                                                                                                                                                                                                                     | เปอร์เซ็นต์ความพรุน(%)                             | ขนาดรู(μm)   |
|--------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|--------------|
| Thermally induced phase separation(TIPS)   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- อุณหภูมิขณะแยกเฟส (Temperature of phase separation)</li> <li>- การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิเมื่อทำให้เย็น (temperature gradient during cooling)</li> </ul>                                                                   |                                                    |              |
| Non solvent induced phase separation(NIPS) | <ul style="list-style-type: none"> <li>- ความเข้มข้นของสารละลาย (Solution concentration)</li> <li>- สารละลาย/คู่ของสารที่ไม่ใช่สารละลาย (Solvent/Non-solvent pair)</li> </ul>                                                                                   | -                                                  | 50 nm- 50 μm |
| Rapid prototyping(Rp)                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>- เรขาคณิตและขนาดของยูนิตเซลล์ (Unit cell geometry and size)</li> <li>- กระบวนการสร้างเลเยอร์ (Layer assembly method)</li> <li>- ขนาดและการจัดเรียงของเลเยอร์ (Layer number and their reciprocal orientation)</li> </ul> | ส่วนใหญ่เมื่อได้รับการควบคุมจะได้ความพรุนที่ 75-90 | As required  |

### 6.3 พอลิเมอร์ที่ US FDA อนุญาตให้ใช้ (17)

- 6.3.1 Polyvinyl Alcohol (Salubridge™ and SaluTunnel™) ข้อดี คือมีน้ำที่มีอัตราส่วนคล้ายกับน้ำที่มีในเนื้อเยื่อของคน มีโครงสร้างที่มั่นคงแข็งแรง ทำให้ปลอดภัยได้ง่าย ส่วนข้อจำกัดคือ ไม่สลายในร่างกายของคน มีการกีดเส้นประสาท และไม่มีงานวิจัยมาสนับสนุนประสิทธิภาพในการใช้เพื่อสร้างเส้นประสาทใหม่
- 6.3.2 Type I collagen based devices (NeuraGen®; Neuroflex™; NeuroMatrix™; NeuraWrap™ and NeuroMend™) ข้อดี คือสกัดและทำให้บริสุทธิ์ได้ง่าย ความสามารถในการสลายในเนื้อเยื่อสามารถเปลี่ยนแปลงได้ ช่วยทำให้เส้นประสาทเติบโตได้ดี เข้ากันได้กับเนื้อเยื่อและช่วยสร้างเส้นประสาทในสัตว์ทดลอง มีประสิทธิภาพเท่ากับการรักษาแบบมาตรฐานเมื่อเส้นประสาทที่ฉีกขาดน้อยกว่า 20 mm ส่วน ข้อเสียคือ ทำให้กีดเส้นประสาทได้มีปฏิกิริยาตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันและต้องใชยากดภูมิคุ้มกัน และมีการเปลี่ยนแปลงประสิทธิภาพการผลิต ในแต่ละครั้ง
- 6.3.3 Porcine small intestinal submucosa (Surgisis® Nerve Cuff) ข้อดี คือ ไม่เกิดปฏิกิริยาตอบสนองต่อภูมิคุ้มกัน ช่วยทำให้เส้นประสาทเจริญเติบโต ส่วนข้อเสียคือ ปฏิกิริยาตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันขึ้นอยู่กับชนิดของ collagen ที่สกัดมา กระบวนการในการทำสกัด และตำแหน่งที่ทำการฝังเข้าไปในร่างกาย ส่วน ข้อเสียคือ มีราคาแพง ยังไม่มีงานวิจัยที่ บ่งบอกถึงประสิทธิภาพของการนำไปใช้เพื่อสร้างเส้นประสาทใหม่
- 6.3.4 Polyglycolic acid (Neurotube®) ข้อดี คือ สลายได้อย่างดีในร่างกาย มีโครงสร้างที่แข็งแรงในช่วงต้นในการฝังงานวิจัยที่บ่งบอกถึงประสิทธิภาพของเมื่อใช้เส้นประสาทที่ฉีกขาดน้อยกว่า 20 มิลลิเมตร และมีข้อมูลของ preclinical ที่บ่งบอกถึงประสิทธิภาพของเมื่อใช้ในเส้นประสาทที่ ฉีกขาดน้อยกว่า 30 มิลลิเมตร ส่วน ข้อเสียคือ ละลายน้ำน้อย อัตราการสลายตัวของพอลิเมอร์สูงทำให้ความแข็งแรงของพอลิเมอร์อยู่ได้ภายในเวลาสั้น
- 6.3.5 Poly D,L lactide-co-e-caprolactone (Neurolac®) ข้อดีคือ มีงานวิจัยที่บ่งบอกถึงประสิทธิภาพของเมื่อใช้ในเส้นประสาทที่ฉีกขาดน้อยกว่า 20 มิลลิเมตร เป็นพอลิเมอร์ที่มีข้อมูลของ preclinical มากที่สุดเมื่อเทียบกับพอลิเมอร์อื่นๆที่ US FDA ได้อนุมัติ



ส่วน ข้อเสียคือ ไม่มีความยืดหยุ่น ทำให้เกิดการหักของเข็มเวลาทำการผ่าตัดต่อกับเส้นประสาท และทำให้มีเกิดการบวมในบริเวณที่ฝังเข้าไป

#### 7. วิศวกรรมเนื้อเยื่อ (tissue engineering)

วิศวกรรมเนื้อเยื่อ (tissue engineering) คือ กระบวนการสร้างเนื้อเยื่อเพื่อทดแทน ช่อมแซม หรือปรับปรุงการทำงานของเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่สูญเสียหรือบาดเจ็บ เช่น เนื้อเยื่อกระดูกอ่อน ผิวหนัง เส้นประสาท กล้ามเนื้อหัวใจ โดยพัฒนามาจากการทำ biomaterial ที่นำโครงร่างเซลล์ หรือสารสำคัญทางชีวภาพมาประกอบกับอวัยวะ โดยอาศัยการพัฒนาความรู้ทั้งสามด้าน ได้แก่ วิศวกรรมของวัสดุชีววิทยาของเซลล์ และวิศวกรรมชีวเคมี เริ่มจากการพัฒนาวิศวกรรมชีววัสดุซึ่งเป็นวัสดุที่เข้ากับร่างกายได้ดี (Biomaterials) เพื่อทำหน้าที่เป็นโครงเลี้ยงเซลล์ (scaffold) ซึ่งส่วนใหญ่นิยมใช้ชีววัสดุจากธรรมชาติ เช่น คอลลาเจน เจลาติน ไหม หรือวัสดุสังเคราะห์ขึ้น เช่น PLA PCL โครงเลี้ยงเซลล์จะถูกนำไปใช้เลี้ยงเซลล์ที่ถูกคัดแยก และขยายพันธุ์ให้มีปริมาณมากพอ แล้วการชักนำให้เปลี่ยนแปลง (differentiate) ไปเป็นเนื้อเยื่อที่ต้องการอย่างสมบูรณ์และสามารถทำงานได้ตามวัตถุประสงค์ ด้วยการควบคุมสภาวะแวดล้อมภายนอกในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพ (Bioreactor) หรือในร่างกายสิ่งมีชีวิต (in vivo regeneration) (18),(19)

#### 8. หลักการของอิเล็กโตรสปินนิง (Electrospinning)

การทำอิเล็กโตรสปินนิงเป็นกระบวนการที่ใช้ผลิตเส้นใยสังเคราะห์ โดยการผลิตเส้นใยโดยใช้กระบวนการไฟฟ้าสถิต ต่างจากวิธีผลิตเส้นใยอื่นคือกระบวนการนี้จะใช้แรงทางไฟฟ้าแทนแรงทางกล โดยพอลิเมอร์เหลวซึ่งอาจจะอยู่ในรูปสารละลาย หรือสารหลอมเหลวที่อยู่ในรูขนาดเล็ก จะถูกทำให้เกิดประจุไฟฟ้าที่ผิวหน้าโดยสนามไฟฟ้าความแรงสูง เนื่องจากประจุที่เกิดขึ้นมีขั้วเหมือนกันจึงมีแรงผลักระหว่างประจุเกิดขึ้น แรงผลักดันนี้เรียกว่า Repulsive Coulombic Force เมื่อมีมาก พอถึงขั้นหนึ่งก็จะไปเอาชนะแรงตึงผิวของพอลิเมอร์เหลวได้เส้นพอลิเมอร์เหลวก็จะถูกฉีดออกมาและจะเปลี่ยนเป็นเส้นใย โดยการระเหยออกของตัวทำละลาย หรือโดยการถ่ายเทความร้อนให้กับสิ่งแวดล้อม แต่อย่างไรก็ตามพบว่าในขั้นตอนการผลิตนาโนไฟเบอร์ไม่ค่อยได้มีการรายงานผลออกมาว่าขั้นตอนการผลิตนาโนไฟเบอร์นั้นทำอย่างไร ซึ่งส่งผลให้เกิดความแตกต่างของการทำนาโนไฟเบอร์ทางการค้าและการทำวิจัย โดยพอลิเมอร์ที่ใช้ทำอิเล็กโตรสปินนิง มีหลากหลาย เช่น ไคโตซาน (chitosan) เด็กแทรน

(dextran) ไฮยาลูโรแนน (hyaluronan) พูลูลูแลน (pullulan) หรือพอลิเมอร์ที่ผ่านการสังเคราะห์ เช่น พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ (polyvinyl alcohol) ยูดราจิต (Eudragit®) ซึ่งความท้าทายของการทำนาโนพอลิเมอร์คือการเลียนแบบโครงร่างภายนอกของเนื้อเยื่อ และคุณสมบัติทางเคมีของเซลล์ โดยการทำ electrospinning มีความสามารถมากพอที่จะสร้างโครงร่างที่เหมือนกับโครงร่างเซลล์ภายนอก เช่น การสร้างเป็นเส้นใยให้มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดเท่ากับเซลล์และมีการจัดเรียงตัวคล้ายเซลล์ (20) เป็นต้น

#### 8.1 อิเล็กโทรสปินนิ่งกับการนำไปใช้ในปัจจุบัน

Subramanian และคณะได้นำ electrospinning ไปใช้ด้านการแพทย์และใช้ด้านการปกป้องสิ่งแวดล้อมจากมลภาวะทางอากาศและน้ำอันเนื่องมาจากคุณสมบัติความชอบของสาร (21)

Huang และคณะมีการนำ Electrospun nanofiber ไปใช้สำหรับการผลิตเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวของสารเคมี และ นาโนเซ็นเซอร์ทางชีวภาพ (21)

Hohman และคณะ ทำโครงร่างนาโนไฟเบอร์แบบละเอียด (ultrafine electrospun nanofiber scaffolds) ได้มีการใช้เตรียมทำท่อนาโนซึ่งเป็นขั้นตอนเริ่มแรกที่สำคัญทางอุตสาหกรรม (21)

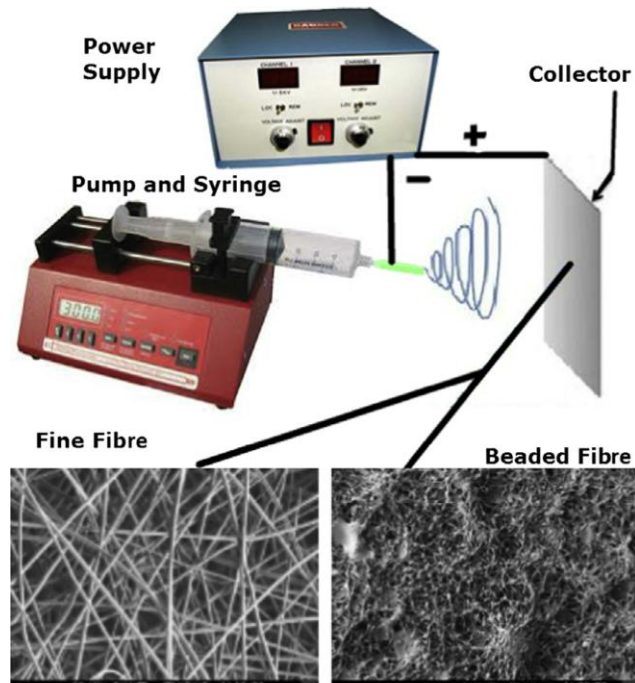
#### 8.2 ส่วนประกอบของเครื่องอิเล็กโทรสปินนิ่ง (22) ได้แก่

8.2.1 กระบอกฉีดยาที่บรรจุสาร (Pump and Syringe): ซึ่งทำหน้าที่บรรจุสารละลายที่เตรียมในการทำอิเล็กโทรสปินนิ่ง

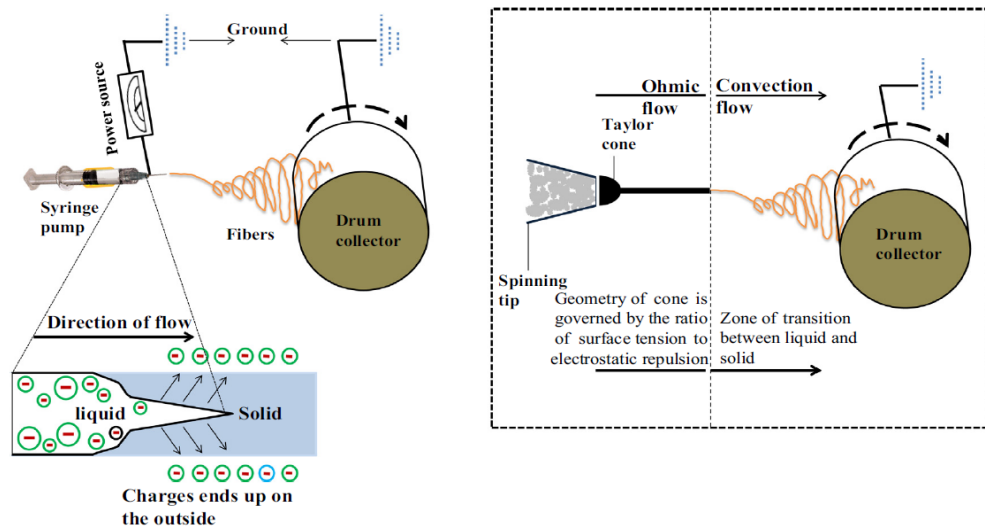
8.2.2 เข็มฉีดยา (needle gauge): หัวเข็มฉีดยาโดยมีหลายขนาด เช่น เบอร์ 19 เบอร์ 20 และ เบอร์ 23 เป็นต้น

8.2.3 พาวเวอร์ซัพพลาย (Power Supply): เป็นเครื่องให้กำเนิดไฟฟ้าเพื่อให้สามารถทำการสปินสารออกมาเป็นเส้นใย

8.2.4 ตัวเก็บสาร (Collector): มีลักษณะเป็นกระดานฉีกราบ ใช้เก็บตัวอย่างเส้นใยที่ผ่านการทำอิเล็กโทรสปินแล้ว โดยมี 2 แบบ คือ แบบ static กับ แบบ dynamic ตามรูปที่ 3

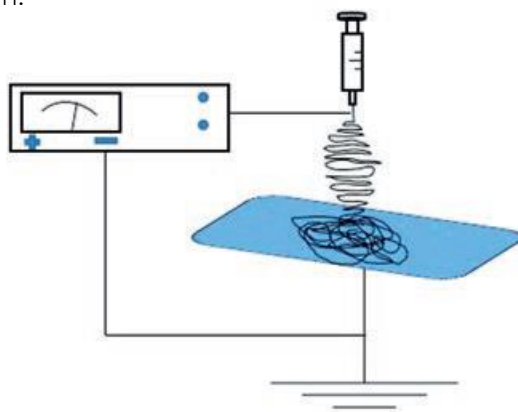


รูปที่ 1 ส่วนประกอบของอิเล็กโตรสปิน (22)

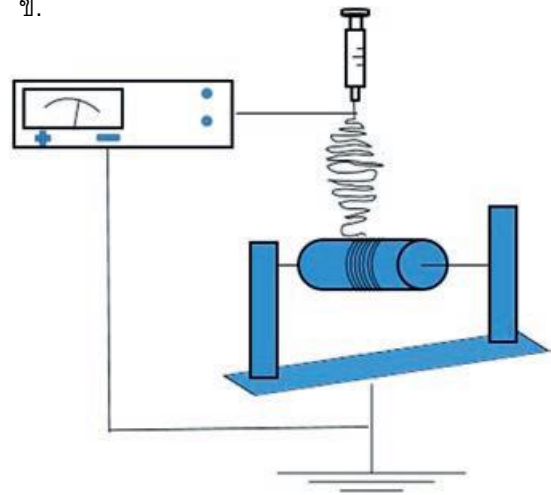


รูปที่ 2 ลักษณะการทำงานของเครื่องอิเล็กโตรสปิน (23)

ก.



ข.



รูปที่ 3 การเก็บตัวอย่างเส้นใย (23) ก. static collector ข. dynamic collector

### 8.3 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการทำอิเล็กโทรสปินนิ่ง (20)

- 8.3.1 ปัจจัยด้านกระบวนการ ได้แก่ กำลังไฟ (Voltage) อัตราการไหล (Flow rate) ระยะห่าง (distance)
- 8.3.2 ปัจจัยด้านสารละลายที่เตรียม ได้แก่ ความเข้มข้นของสาร ความหนืด โครงสร้างโมเลกุล แรงตึงผิว
- 8.3.3 ปัจจัยด้านสภาวะแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิ และความชื้น

## 9. การตรวจสอบลักษณะทางกายภาพเคมีของเส้นใยนาโน

ในการตรวจสอบคุณลักษณะทางกายภาพของเส้นใยนาโน (15) จะแบ่งแยกเป็น 3 ระดับ ได้แก่

### 9.1 ระดับโมเลกุล (Molecular level) แยกเป็น 3 ส่วน ได้แก่

#### 9.1.1 น้ำหนักโมเลกุล (Molecular weight/mass)

- 1) GPC (Gel Permeation Chromatography) /SEC (Size Exclusion Chromatography)
- 2) MS (Mass spectrometry)

#### 9.1.2 โครงสร้าง (Structure)

- 1) X-ray diffraction (XRD)
- 2) Differential scanning calorimeter (DSC)
- 3) Raman spectroscopy
- 4) Nuclear magnetic resonance (NMR)
- 5) Fourier transform infrared (FTIR)

#### 9.1.3 ส่วนประกอบ (Component)

- 1) Electron microscopy

### 9.2 ระดับพื้นผิว (Surface level) แยกเป็น 3 ส่วน ได้แก่

#### 9.2.1 คุณสมบัติทางเคมีของพื้นผิว (Surface chemistry)

- 1) X-ray photoelectron spectroscopy S (XP)
- 2) Energy dispersive X-ray (EDX)
- 3) Fluorescence microscopy
- 4) Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

#### 9.2.2 ความขรุขระ (Roughness)

- 1) Atomic force microscopy (AFM)

### 9.2.3 ความสามารถในการเปียก (Wettability)

- 1) Contact angle measurement
- 2) Water capillary reaction

## 9.3 ระดับวัสดุ (Material level) แยกเป็น 3 ส่วน ได้แก่

### 9.3.1 คุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา (Morphology)

- 1) AFM (Atomic force microscopy)
- 2) Light microscopy
- 3) Electron microscopy

### 9.3.2 ลักษณะความพรุน (Porous structure)

- 1) Gravimetrical method
- 2) Mercury intrusion
- 3) Brunauer-Emmett-Teller (BET)

### 9.3.3 คุณสมบัติเชิงกล (Mechanical properties)

- 1) Atomic force microscopy (AFM)
- 2) Mechanical tester

## 10. หลักการเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์

### 10.1 ฟลูอิดรีทรานส์ฟอรั่ม อินฟราเรดสเปกโทรมิเตอร์ (FTIR)

เป็นเครื่องมือที่ใช้สำหรับวิเคราะห์หาหมู่ฟังก์ชันของสารประกอบอินทรีย์ โดยอาศัยหลักการของการดูดกลืนคลื่นรังสีช่วงกลางอินฟราเรด (Middle infrared region) ประมาณ  $400-4000\text{ cm}^{-1}$  เมื่อโมเลกุลได้รับพลังงานจากคลื่นรังสีอินฟราเรด ที่มีความถี่ตรงกับความถี่ของการสั่น (Stretching) หรือ การหมุน (Bending) ของพันธะโคเวเลนต์ในโมเลกุล จะทำให้โมเลกุลดังกล่าวเกิดการดูดกลืนแสง IR และมีการเปลี่ยนแปลงค่าโมเมนต์ขั้วคู่ (Dipole

moment) ของโมเลกุล จากนั้นเครื่องมือจะวัด ค่าความเข้มแสงต่อความถี่หรือความยาวคลื่น (Wave number) ได้เป็นสเปกตรัมที่เรียกว่า “Interferogram” ซึ่งในแต่ละพันธะของหมู่ฟังก์ชัน จะแสดงค่าความยาวคลื่นเฉพาะต่างกัน โดยสามารถใช้ได้กับตัวอย่างทั้ง 3 สถานะ โดยวิธีหลักๆที่นิยมคือการบดสารตัวอย่างกับโพแทสเซียมโบรไมด์ ซึ่งจะใช้กับตัวอย่างที่เป็นของแข็ง ถ้าตัวอย่างเป็นของเหลวจะใช้วิธีการหยดสารไประหว่างแผ่นโพแทสเซียมโบรไมด์ หรือแผ่นเกลือรูปอื่นก็ได้ (24) ในการประยุกต์ใช้กับเส้นใยนาโนสามารถทำได้โดยดูว่าเส้นใยที่ได้มีการเปลี่ยนแปลงของหมู่โครงสร้าง หรือแสดงหมู่ที่สำคัญในการยืนยันว่ามีสารที่ใช้ทำคงอยู่

## 10.2 เอกซเรย์ดิฟแฟรกชัน (x-ray diffraction)

เทคนิคเอกซเรย์ดิฟแฟรกชัน หรือ เทคนิค XRD เป็นเทคนิคที่นำรังสีเอ็กซ์ มาใช้วิเคราะห์สารประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่างและนำมาใช้ศึกษารายละเอียดเกี่ยวกับโครงสร้างผลึกของสารตัวอย่าง เทคนิค XRD อาศัยหลักการของการยิงรังสีเอ็กซ์ที่ทราบความยาวคลื่นไปกระทบชิ้นงาน ทำให้เกิดการเลี้ยวเบนของรังสีที่มุมต่างๆกันโดยมีห้ววัดเป็นตัวรับข้อมูล เนื่ององศาในการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์จะขึ้นอยู่กับองค์ประกอบและโครงสร้างของสารที่มีอยู่ในตัวอย่าง ข้อมูลที่ได้รับจึงสามารถบ่งบอกชนิดของสารประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่างและสามารถนำมาใช้ศึกษารายละเอียดเกี่ยวกับโครงสร้างของผลึกของสารตัวอย่างนั้นๆ ได้ นอกจากนี้ ข้อมูลที่ได้ยังสามารถนำมาหาปริมาณของสารประกอบแต่ละชนิดในสารตัวอย่าง ปริมาณความเป็นผลึก ขนาดของผลึก ความสมบูรณ์ของผลึก และความเค้น ของสารประกอบในสารตัวอย่าง อีกทั้งความหนาของฟิล์มได้อีกด้วย (25)

## 10.3 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV/VIS Spectrophotometer)

เครื่องวัดการดูดกลืนแสงเป็นเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณแสงและค่า intensity ในช่วงรังสียูวีและช่วงแสงขาวที่ทะลุผ่านหรือถูกดูดกลืนโดยตัวอย่างที่วางอยู่ในเครื่องมือ โดยที่ความยาวคลื่นแสงจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณและชนิดของสารที่อยู่ในตัวอย่างซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อนและสารอินทรีย์ที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นเหล่านี้ได้ คุณสมบัติในการดูดกลืนแสงของสารเมื่อโมเลกุลของตัวอย่างถูกฉายด้วยแสงในช่วงรังสียูวีหรือแสงขาวที่มีพลังงานเหมาะสมจะทำให้อิเล็กตรอนภายในอะตอมเกิดการ

ดูดกลืนแสงแล้วเปลี่ยนสถานะไปอยู่ในชั้นที่มีระดับพลังงานสูงกว่า เมื่อทำการวัดปริมาณของแสงที่ผ่านหรือสะท้อนมาจากตัวอย่างเทียบกับแสงจากแหล่งกำเนิดที่ความยาวคลื่นค่าต่างๆ ตามกฎของ Beer-Lambert ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ของสารจะแปรผันกับจำนวนโมเลกุลที่มีการดูดกลืนแสง ดังนั้นจึงสามารถใช้เทคนิคนี้ในระบุชนิดและปริมาณของสารต่างๆ ที่มีอยู่ในตัวอย่างได้ (26)

#### 10.4 กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM; scanning electron microscope)

เป็นกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่มีกำลังขยายไม่สูงเท่ากับเครื่อง TEM โดยเครื่อง SEM มีกำลังขยายสูงสุดประมาณ 10 นาโนเมตร ซึ่งการเตรียมตัวอย่างเพื่อที่จะดูด้วยเครื่อง SEM นี้ไม่จำเป็นต้องที่ตัวอย่างจะต้องมีขนาดบางเท่ากับเมื่อดูด้วยเครื่อง TEM ก็ได้ การสร้างภาพทำได้โดยการตรวจวัดอิเล็กตรอนที่สะท้อนจากพื้นผิวหน้าของตัวอย่างที่ทำการสำรวจ ซึ่งภาพที่ได้จากเครื่อง SEM นี้จะเป็นภาพลักษณะของ 3 มิติ ดังนั้นเครื่อง SEM จึงถูกนำมาใช้ในการศึกษาพื้นฐานและรายละเอียดของลักษณะพื้นผิวของตัวอย่าง เช่น ลักษณะพื้นผิวด้านนอกของเนื้อเยื่อและเซลล์ หน้าตัดของโลหะและวัสดุ เป็นต้น โดยหลักการของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด จะประกอบด้วยแหล่งกำเนิดอิเล็กตรอนซึ่งทำหน้าที่ผลิตอิเล็กตรอนเพื่อป้อนให้กับระบบ โดยกลุ่มอิเล็กตรอนที่ได้จากแหล่งกำเนิดจะถูกเร่งด้วยสนามไฟฟ้า จากนั้นกลุ่มอิเล็กตรอนจะผ่านเลนส์รวบรวมรังสี (condenser lens) เพื่อทำให้กลุ่มอิเล็กตรอนกลายเป็นลำอิเล็กตรอน ซึ่งสามารถปรับให้ขนาดของลำอิเล็กตรอนใหญ่หรือเล็กได้ตามต้องการ หากต้องการภาพที่มีความคมชัดจะปรับให้ลำอิเล็กตรอนมีขนาดเล็ก หลังจากนั้นลำอิเล็กตรอนจะถูกปรับระยะโฟกัสโดยเลนส์ใกล้วัตถุ (objective lens) ลงไปบนผิวชิ้นงานที่ต้องการศึกษา หลังจากลำอิเล็กตรอนถูกกวาดลงบนชิ้นงานจะทำให้เกิดอิเล็กตรอนทุติยภูมิ (secondary electron) ขึ้น ซึ่งสัญญาณจากอิเล็กตรอนทุติยภูมินี้จะถูกบันทึก และแปลงไปเป็นสัญญาณทางอิเล็กทรอนิกส์และ ถูกนำไปสร้างเป็นภาพบนจอโทรทัศน์ และสามารถบันทึกภาพจากหน้าจอโทรทัศน์ได้ (27)

ในการประยุกต์ใช้กับการดูคุณลักษณะของเส้นใยนาโนสามารถทำได้โดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใย และแปลงค่าความถี่ออกมาในรูปกราฟฮิสโทแกรม



#### 10.5 เครื่องวัดค่าความต่างความร้อนของสาร (DSC)

DSC เป็นเทคนิคที่ใช้วิเคราะห์ทดสอบวัสดุโดยการวัดค่าพลังงานความร้อนและอุณหภูมิของสารตัวอย่างเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพหรือการเปลี่ยนแปลงทางเคมี เช่น การหลอมเหลว การเปลี่ยนสถานะ การเปลี่ยนรูปผลึก การเกิดปฏิกิริยาเคมี เป็นต้น โดยที่พื้นที่ใต้กราฟที่เกิดขึ้นจะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการเปลี่ยนแปลงความร้อนของตัวอย่าง ในการวิเคราะห์ตัวอย่าง ตัวอย่างจะถูกวางบนจานอะลูมิเนียมที่อยู่ภายในเตาที่ควบคุมอุณหภูมิได้ โดยภายในเตาจะมีสารอ้างอิงซึ่งเป็นจานอะลูมิเนียมเปล่า เพื่อใช้เป็นตัวเปรียบเทียบกับตัวอย่างภายใต้สภาวะเดียวกัน

#### 10.6 เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture analyzer)

หลักการทำงานของเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส คือการให้แรงกระทำต่อชิ้นวัสดุและวัสดุชิ้น นั้นให้แรงสนองตอบกลับมา ซึ่งแรงที่วัสดุสนองตอบกลับมามาจะแสดงออกมาในรูปแบบกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ความเค้นกับความเครียด หรือ แรงที่กระทำ กับระยะที่เปลี่ยนแปลง หรือ แรงที่กระทำกับเวลา ซึ่งใช้ทดสอบเส้นใยนาโนเพื่อคุณลักษณะเชิงกล (28) ตัวอย่างเช่น Jian และคณะ (29) เตรียมตัวอย่างแผ่นเส้นใยนาโนโดยการตัดแผ่นขนาด 70 มิลลิเมตร x 10 มิลลิเมตร และใช้ความเร็ว 0.3 มิลลิเมตร/วินาที ในการดึงแผ่นเส้นใยเพื่อดูค่าโมดูลัสของยัง ความเค้น และความเครียด

#### 10.7 เครื่องวิเคราะห์ลักษณะการหยดตัวของของเหลว (Drop shape analyzer)

หลักการของเครื่อง drop shape analyzer อาศัยความชอบน้ำของพื้นผิวสัมผัสของของแข็งที่ทดสอบโดยวัดจากค่ามุมของน้ำที่ทำกับพื้นผิวของแข็ง และสามารถวัดค่าแรงดึงผิวได้ โดยในการทดสอบคุณลักษณะของเส้นใยมักดูความชอบน้ำของพื้นผิวสัมผัสโดยการหยดน้ำปริมาณที่เหมาะสมลงบนพื้นผิว และถ่ายภาพหยดน้ำที่เกาะบนพื้นผิวของแข็งที่ทดสอบ (30)

## 11. พอลิเมทิลเมทาไครเลต (PMMA: Polymethyl methacrylate)

### 11.1 พอลิเมทิลเมทาไครเลตคืออะไร

พอลิเมทิลเมทาไครเลต คือ โพลีเมอร์ชนิดเทอร์โมพลาสติกที่โปร่งใส (Transparent thermoplastic) โดยมีชื่อ IUPAC สองอย่างคือ poly [1-(methoxy carbonyl)-1-methyl ethylene] และ poly (methyl 2-methylpropenoate) มีลักษณะดีหลายอย่าง เช่น สามารถเข้ากันได้เป็นอย่างดีกับเนื้อเยื่อคน, ไม่มีพิษต่อเนื้อเยื่อคน, ราคาไม่แพงมาก, มีกระบวนการผลิตง่าย, แข็งแรงทนต่อแรงดันทาน จึงทำให้ PMMA ได้รับความนิยมในการประยุกต์ใช้อย่างแพร่หลายทางชีวการแพทย์ โดยพอลิเมอร์ ชนิดนี้มีรูปร่างเป็นอสัณฐาน (amorphous polymers) ที่เกิดจากการเชื่อมต่อกันของ methyl methacrylate (MMA) โมโนเมอร์ หลายๆโมเลกุล(7)

### 11.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับพอลิเมทิลเมทาไครเลต

Zuhair และคณะ (31) ได้มีการรายงานถึงความสำเร็จในการทำโครงร่าง PMMA ผสม Chitosan ผลลัพธ์ที่ได้คือ สามารถเพิ่มคุณสมบัติทางกล เพิ่มการสลายตัว เพิ่มความพรุน และเพิ่มการดูดซับน้ำ ดังนั้นโพลีเมอร์ PMMA ผสม chitosan สามารถนำไปใช้ในด้าน การปลดปล่อยยาได้

Zuber และคณะ (32) ได้มีการเตรียมโพลีเมอร์ PU-PMMA ผสมกับ titanium oxide ผลที่ได้ออกมาคือ สามารถนำมาใช้กับสิ่งมีชีวิตได้โดยปราศจากพิษและมีคุณสมบัติความแข็งแรงที่ดี และสามารถนำมาใช้เป็นรากฟันเทียมได้

Nein และคณะ (33) ได้นำเกลือของ PMMA มาผสมกับเนื้อกระดูกซึ่งเพิ่มความชอบไขมันของเนื้อกระดูกจึงทำให้น้ำไขสันหลังผ่านได้ง่ายขึ้น

Shi และคณะ (34) มีรายงานว่ามีการใช้ PMMA เป็นเมทริกโพลีเมอร์ในการเตรียมโครงสร้างของ PMMA ผสมกับ เจลาตินและยาปฏิชีวนะ โดยโครงสร้างนี้สามารถปลดปล่อยยาปฏิชีวนะเป็นเวลา 10-14 วันด้วยอัตราการปลดปล่อย 10 mg/ml ต่อวันและโดยอัตราการสลายตัวทดสอบด้วย phosphate-buffered saline-collagenase ขณะที่ความพรุนไม่เปลี่ยนแปลงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์

Webb และคณะ (35) ในการผ่าตัดกระดูก มีการใช้ PMMA ซึ่งถือว่าเป็นหนึ่งในวัสดุที่ทนทานมากที่สุดโดยมีการใช้ในการผ่าตัดเปลี่ยนข้อมาแล้ว

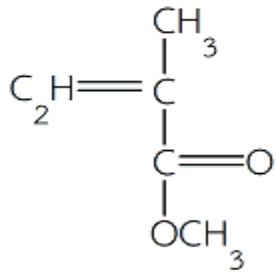
Haijian และคณะ (36) มีการนำนาโนไฟเบอร์ของโพลิเมทิลเมทาไครเลตที่จัดให้เป็นแนวเดียวกัน (aligned electrospun poly(methyl methacrylate) nanofibers) มาช่วยเพิ่มการเจริญของเซลล์ชวา (Schwann cells)

ตารางที่ 3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับพอลิเมทิลเมทาไครเลต

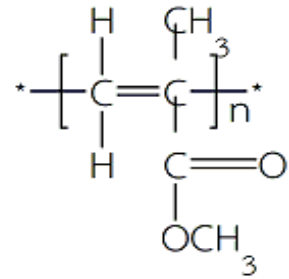
| ลำดับ | วิธีเตรียมสารละลาย PMMA                                                     | วิธีผลิตเส้นใยนาโนไฟเบอร์ด้วยอิเล็กโตรสปินนิง                                                                                                                                                                                                                                               | อ้างอิง |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1     | ละลาย PMMA ใน DMF โดย<br>คนอย่างแรงเป็นเวลา 24<br>ชั่วโมง                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- ศักย์ไฟฟ้า (voltage) 15, 20 kV</li> <li>- ระยะห่าง (collection distance) 10, 15, 20 cm</li> <li>- อัตราความเร็ว (feed rate) 1, 2, 4 mL/h</li> <li>- อุณหภูมิห้อง (room temperature) 25 C<sup>0</sup></li> <li>- ความชื้น (humidity) 32%</li> </ul> | 37      |
| 2     | ละลาย PMMA ใน DMF โดย<br>คนอย่างแรงเป็นเวลา 24<br>ชั่วโมง                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- ศักย์ไฟฟ้า (voltage) 15 kV</li> <li>- ระยะห่าง (collection distance) 18 cm</li> <li>- อัตราความเร็ว (feed rate) 4 mL/h</li> <li>- อุณหภูมิ (temperature) 22 C<sup>0</sup></li> <li>- ความชื้น (humidity) 32%</li> </ul>                            | 38      |
| 3     | ละลาย PMMA ใน Acetone<br>แล้วนำไป sonicate ที่อุณหภูมิ<br>60 C <sup>0</sup> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- ศักย์ไฟฟ้า (voltage) 10 kV</li> <li>- ระยะห่าง (collection distance) 4 cm</li> <li>- อัตราความเร็ว (feed rate) /ไม่ระบุ</li> <li>- อุณหภูมิ (temperature) /ไม่ระบุ</li> <li>- ความชื้น (humidity) /ไม่ระบุ</li> </ul>                              | 39      |

| ลำดับ | วิธีเตรียมสารละลาย PMMA                | วิธีผลิตเส้นใยนาโนไฟเบอร์ด้วยอิเล็กโตรสปินนิง                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | อ้างอิง |
|-------|----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 4     | ละลาย PMMA ใน acetone/DMSO (2:3,v/v)   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- ศักย์ไฟฟ้า (voltage) 25 kV</li> <li>- ระยะห่าง (collection distance) 10 cm</li> <li>- อัตราความเร็ว (feed rate) 1 mL/h</li> <li>- อุณหภูมิ (temperature) ไม่บอก</li> <li>- ความชื้น (humidity) ไม่บอก</li> </ul>                                                                                                                                                     | 40      |
| 5     | ละลาย PMMA ใน DMF                      | <ul style="list-style-type: none"> <li>- ศักย์ไฟฟ้า (voltage) 15 kV</li> <li>- ระยะห่าง (collection distance) 10-23 cm</li> <li>- อัตราความเร็ว (feed rate) 1-5 mL/h</li> <li>- อุณหภูมิห้อง (room temperature) 25 C<sup>0</sup></li> <li>- ความชื้น (humidity) 32%</li> </ul>                                                                                                                                | 30      |
| 6     | เตรียมสารละลายแขวนตะกอนของ PMMA ใน DMF | <p>วิธีจัดให้เส้นนาโนไฟเบอร์เป็นแนวเดียวกัน (aligned electrospun)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- ศักย์ไฟฟ้า (voltage) 10 kV</li> <li>- ระยะห่าง (collection distance) 12, 20 cm</li> <li>- อัตราความเร็ว (feed rate) 0.3 ml/h</li> <li>- อุณหภูมิห้อง (room temperature) 22-24 <sup>0</sup> C</li> <li>- ความชื้น (humidity) &lt; 60%</li> <li>- อัตราการหมุน (motor speed) 1200 rpm</li> </ul> | 36      |

### 11.3 สูตรโครงสร้าง (Structure)



PMMA monomer



PMMA polymer

รูปที่ 4 สูตรโครงสร้างของพอลิเมทิลเมทาไครเลตและมอนอเมอร์พอลิเมทิลเมทาไครเลต

#### 11.4 สมบัติของสารทางเคมีและกายภาพของ (Chemical and physical properties) (7) ของพอลิเมทิลเมทาไครเลต

ดิลเมทิลเมทาไครเลต

ตารางที่ 4 สมบัติทางเคมีและกายภาพของ PMMA

| หัวข้อ                                                              | รายละเอียด                                                                                                                                               |
|---------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| สี (color)                                                          | ไม่มีสี                                                                                                                                                  |
| อุณหภูมิของการเปลี่ยนสถานะ คล้ายแก้ว (glass transition temperature) | 110 °C - 120 °C                                                                                                                                          |
| ความหนาแน่น (density)                                               | 1.18 g/cm <sup>3</sup>                                                                                                                                   |
| จุดหลอมเหลว (Melting point)                                         | 220 °C - 240 °C                                                                                                                                          |
| ความสามารถในการดูดน้ำ (water absorption)                            | 0.3%                                                                                                                                                     |
| ความทนแรงดึง (tensile strength)                                     | 72MPa                                                                                                                                                    |
| ความสามารถในการละลาย (solubility)                                   | Trichloroethylene เป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุดของ PMMA รองลงมาคือ ethyl acetate และ cyclohexanone ส่วน dimethylformamide สามารถละลาย PMMA ได้แต่ต้องใช้เวลา |
| การเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส Acid hydrolysis                          | PMMA ถูกไฮโดรไลซิสได้โดยกรด sulfuric acid (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )                                                                              |
| การสลายตัวด้วยความร้อน (thermal decomposition)                      | 220 °C (ถ้าไม่มีออกซิเจน)<br>260 °C (ถ้ามีออกซิเจน)                                                                                                      |

#### 12. กรดโฟลิก (Folic acid)

##### 12.1 กรดโฟลิก (Folic acid) (41,42)

กรดโฟลิก (Folic acid) คือวิตามิน B ชนิดหนึ่งที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยมนุษย์ ซึ่งเมื่อกรดโฟลิกผ่านกระบวนการเมตาบอลิซึมในร่างกายจะเปลี่ยนเป็น Folate ซึ่ง Folate มีหน้าที่ช่วยสังเคราะห์และซ่อมแซมสายพันธุกรรม (DNA) ซึ่งจะมีผลต่อการแบ่งเซลล์และการเจริญเติบโตของมนุษย์ โดยส่วนมากจะพบ Folate ในอาหารเช่น ตับ ถั่วลิสง เต้าหู้ เป็นต้น

## 12.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกรดโฟลิก

Llamas และคณะ (43) มีการศึกษาว่ากรดโฟลิกช่วยให้ Neural tube ปิดลงได้ โดยถ้าขาดกรดโฟลิกจะทำให้เกิดความผิดปกติของทารกในครรภ์และก่อให้เกิดการแท้งได้ ซึ่งถ้าขาดกรดโฟลิกจะทำให้คุณภาพชีวิตของทารกแย่ลงและต้องใช้การรักษาที่ราคาแพง ซึ่งมีการพบว่าถ้าให้กรดโฟลิกก่อนที่จะตั้งครรภ์จะทำให้ลดอุบัติการณ์ของโรค Espina Bifida (ความบกพร่องของกระดูกไขสันหลังจะมีถุงยื่นผ่านจากกระดูกไขสันหลังออกมาตามตำแหน่งที่บกพร่องนั้น)

Akchiche และคณะ(44) ในการศึกษาแบบ in vitro ในการเลี้ยงเซลล์ H19-7 hippocampal cell ของหนูพบว่าตัวกลาง (media) ที่ไม่มี folate จะทำให้การเจริญเติบโตของเซลล์มีอัตราลดลง เมื่อเทียบกับตัวกลาง (media) ที่มี folate

Balashova และคณะ (45) มีการศึกษาพบว่าโรค neural tube reflex ไม่ใช่เพียงโรคเดียวที่มีสาเหตุมาจากการขาด folate แต่ยังมีความผิดปกติอื่นๆอีก โดยพบว่าการขาด folate ในช่วงตั้งครรภ์จะทำให้เกิดโรคความผิดปกติที่สมอง โดยมีการกลายพันธุ์ของยีนชื่อ FOLR1 ซึ่งส่งผลให้เกิดการถดถอยของ motor function และเกิดอาการชักได้ในภายหลัง

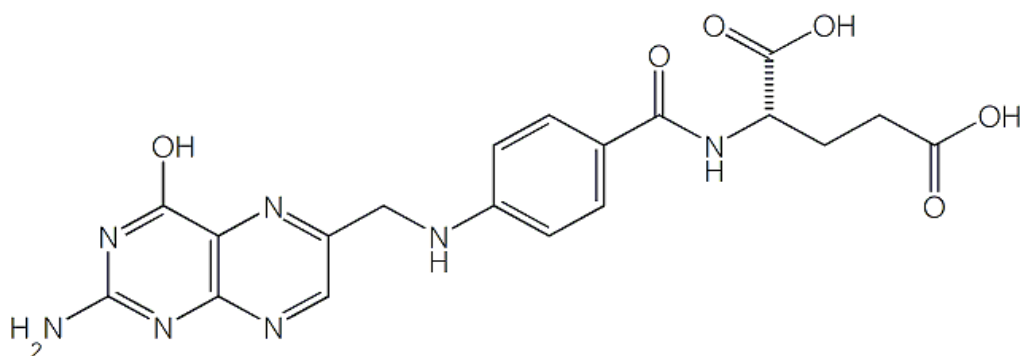
Jisheng และคณะ (46) จากงานวิจัยที่นำ Copper Metal-Organic มาทำเป็นนาโนพาร์ทิเคิลเพื่อที่จะช่วยให้แผลหายเร็วขึ้นในคนไข้โรคเบาหวานซึ่งมีการเติมกรดโฟลิกในช่วงการสังเคราะห์ HKUST-1 เพื่อที่จะสร้าง F-HKUST-1 โดยหน้าที่ของกรดโฟลิกที่เข้าไปจับกับนาโนพาร์ทิเคิลเพื่อช่วยความคงตัวของสาร และช่วยให้การปลดปล่อย copper ion ดำเนินไปอย่างช้าๆ และลดความเป็นพิษต่อเซลล์ พร้อมกับเพิ่มการเข้าของ copper ion ( $\text{Cu}^{2+}$ ) เข้าสู่เซลล์ซึ่ง F-HKUST-1 เหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเส้นเลือดพร้อมกับกระตุ้นการสะสมของคอลลาเจนและช่วยมัดเซลล์ผิว ทำให้อัตราการปิดของแผลเร็วขึ้น ซึ่งจากงานวิจัยนี้สามารถสรุปได้ว่าการนำกรดโฟลิกเข้าไปในเซลล์ F-HKUST-1 เป็นวิธีที่ง่าย ปลอดภัยและ สามารถควบคุมการปล่อยของ Copper ion ( $\text{Cu}^{2+}$ ) ได้

Ahmet Hama และคณะ (9) ได้ทำงานวิจัยเกี่ยวกับการรักษา tibial nerve ในหนูด้วย folic acid โดยฉีดเข้าหน้าท้อง (Intraperitoneal) ของหนูขาวเพศผู้ โดยในการทดลองได้ทำการตัด tibial nerve ด้านขวาและเย็บด้วยเทคนิค end to end และแบ่งหนูออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม

ควบคุม และ กลุ่มทดลองที่ให้ folic acid ฉีดเข้าหน้าท้องโดยใช้เวลา 6 สัปดาห์ พบว่าในกลุ่มทดลองที่ได้รับกรดโฟลิก เมื่อตัดเนื้อเยื่อมาส่งกล้องจุลทรรศน์พบว่าการปริมาตรและความหนาแน่นของแอกซอนเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

Kim และคณะ (47)พบว่ากรดโฟลิกที่ถูกรวมเข้าไปในท่อประสาทจะสร้างสภาวะทางเคมีที่เหมาะสมล้อมรอบเนื้อเยื่อเพื่อช่วยให้เซลล์ชวานน์ (schwann cell) เข้ามาในท่อประสาท ทำให้มีสภาวะแวดล้อมที่ดีทั้งทางด้านเคมีและกายภาพ ซึ่งมีกระบวนการ คือ การเพิ่มขึ้นของเซลล์ชวานน์ การปลดปล่อยของสารสื่อประสาท (neurotrophin) จากเซลล์ชวานน์ และการสร้างแอกซอน โดยมีการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ และการเจริญเติบโตเซลล์ ซึ่งจะนำเซลล์ชวานน์ และเซลล์ PC-12 ความหนาแน่นที่ 10,000 เซลล์/หลุม ใช้ในการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ และ 500 เซลล์/หลุม ใช้ในทดสอบการเจริญเติบโตเซลล์ และนำไปบ่มในตัวกลางที่ช่วยการเจริญเติบโต(complete growth media) 100 ไมโครลิตร ที่มีความเข้มข้นของกรดโฟลิกที่แตกต่างกัน อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ 5 % โดยใช้เวลา 24 ชั่วโมง สำหรับการทดสอบความเป็นพิษ และ 1 3 5 และ 7 วันสำหรับการทดสอบการเจริญเติบโตเซลล์

### 12.3 สูตรโครงสร้าง (Structure)



รูปที่ 5 สูตรโครงสร้างของกรดโฟลิก



12.4 สมบัติของสารทางเคมีและกายภาพ (Chemical and physical properties) (48,49) ของ

กรดโฟลิก

ตารางที่ 5 สมบัติทางเคมีและกายภาพของกรดโฟลิก

| หัวข้อ                                 | รายละเอียด                                                                                                                                  |
|----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| น้ำหนักโมเลกุล (Molecular weight)      | 441.404 g/mol                                                                                                                               |
| รูปแบบโมเลกุล (Molecular formula)      | $C_{19}H_{19}N_7O_6$                                                                                                                        |
| ลักษณะทางกายภาพ (Physical description) | มีลักษณะเป็นเข็มหรือเกล็ด (needles or platelets) และจะกลายเป็นสีดำถ้านำที่อุณหภูมิ 250 °C                                                   |
| สี (Color)                             | เหลืองส้ม                                                                                                                                   |
| กลิ่น (Odor)                           | ไม่มีกลิ่น                                                                                                                                  |
| ความคงตัว (Stability)                  | ในรูปของสารละลายสารจะไวต่อความร้อนและสลายตัวอย่างรวดเร็วในที่ที่มีแสง ดังนั้นจึงควรป้องกันการถูกแสง                                         |
| การละลาย (Solubility)                  | ละลายน้ำ 1.6 mg/L ( 25 °C) ละลายได้ ethanol ได้บางส่วน<br>ละลายได้ในน้ำร้อนที่เจือจางด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) และกรดซัลฟิวริก ( $H_2SO_4$ ) |
| การสลายตัว (Decomposes)                | ที่อุณหภูมิ 250 °C                                                                                                                          |
| ความดันไอ (Vapor Pressure)             | 6.2X10-20 mmHg ที่ 25 °C                                                                                                                    |
| pH                                     | Folic acid 1 g ในน้ำ 10 ml มี pH 4.0-4.8 ถ้าตัวทำละลายเป็น Sodium bicarbonate จะมี pH อยู่ในช่วง 6.5-6.8                                    |
| pKa                                    | 3.5, 4.3 (carboxylic acid moieties)                                                                                                         |
| Log P                                  | - 2.5                                                                                                                                       |

#### 12.5 การหาปริมาณกรดฟอสฟอริกด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer (50)

จากงานวิจัยของ Kshirsagar และคณะมีการประยุกต์การหาปริมาณของกรดฟอสฟอริก โดยใช้เครื่อง UV-VIS spectrophotometer โดยใช้ 3% dispotassium phosphate ช่วยละลายกรดฟอสฟอริกในตัวทำละลายที่เป็นน้ำ เนื่องจากกรดฟอสฟอริกสามารถละลายในน้ำได้ในปริมาณน้อย โดยมีการทำกราฟมาตรฐานที่ความเข้มข้น 2 4 6 8 และ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามกฎของเบียร์ (Beer's law) ที่ความยาวคลื่น 281 นาโนเมตร

### บทที่ 3

## วิธีดำเนินการวิจัย

#### 1. การศึกษาข้อมูล ทบทวนวรรณกรรม

- 1.1 ศึกษาเกี่ยวกับลักษณะและคุณสมบัติของเส้นใยนาโน เทคโนโลยีนาโนและวิศวกรรมเนื้อเยื่อ
- 1.2 ศึกษาเทคนิคการทำอิเล็กโทรสปินนิ่งและตัวแปรที่สำคัญพร้อมกับหลักการทำงานของเครื่องอิเล็กโทรสปินนิ่ง
- 1.3 ศึกษาคุณสมบัติของสารที่นำมาทดลอง (พอลิเมอร์และกรดโฟลิก)
- 1.4 ศึกษาวิธีการตรวจคุณลักษณะของเส้นใยนาโนพอลิเมทิลเมทาไครเลตอิเล็กโทรสปิน

#### 2. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

##### 2.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- 2.1.1 Dimethyl sulfoxide (DMSO) (SIGMA-ALDRICHUSA<sup>®</sup>, USA)
- 2.1.2 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) (MERCK<sup>®</sup>, Germany)
- 2.1.3 Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide (MTT) (SIGMA-ALDRICHUSA<sup>®</sup>, USA)
- 2.1.4 Schwann cells Rat (Rattus notvegicus) (ATCC<sup>®</sup>, CRL-2941<sup>™</sup>, USA )
- 2.1.5 กรดโฟลิก (Folic acid) (SIGMA-ALDRICHUSA<sup>®</sup>, UK)
- 2.1.6 ไดโพแทสเซียมฟอสเฟต (Dipotassium phosphate) (MERCK<sup>®</sup>, Germany)
- 2.1.7 ไดเมทิลฟอรั่มาร์ไมด์ (Dimethylformamide, DMF) (ACILLabscan<sup>®</sup>, Thai)
- 2.1.8 พอลิเมทิลเมทาไครเลต (Polymethyl methacrylate; PMMA) (SIGMA-ALDRICHUSA<sup>®</sup>, USA)
- 2.1.9 โพแทสเซียมโบรไมด์ (Potassium Bromide) UNIVAR<sup>®</sup>, Thai)
- 2.1.10 ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer saline) (gibco<sup>®</sup>, UK)

##### 2.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

- 2.2.1 Autopipette (RAININ<sup>®</sup> Pipet-Lite XLS, USA)

- 2.2.2 Beaker ขนาด 20 50 100 250 และ 400 มิลลิลิตร (SCHOTT<sup>®</sup>, Germany)
- 2.2.3 Biological safety cabinet class 2(ESCO<sup>®</sup>, AC2-651, USA)
- 2.2.4 Cell Culture Flasks (Corning<sup>®</sup>, USA)
- 2.2.5 CO<sub>2</sub> Incubator (SL<sup>®</sup>, USA)
- 2.2.6 Differential scanning calorimetry (PerkinElmer<sup>®</sup>, DSC8000, USA)
- 2.2.7 Drop shape analyzer (FTA<sup>®</sup>, 1000B, USA)
- 2.2.8 Foil (DIAMOND<sup>®</sup>, China)
- 2.2.9 Fourier transform infrared spectroscopy (Thermo<sup>®</sup>, Nicolet 6700 FT-IR, USA)
- 2.2.10 Magnetic stirrer (DiLigent ST-1200EC<sup>®</sup>, Thai)
- 2.2.11 Magnetic stirrer และ stirrer bar (IKA<sup>®</sup>Ro10, Becthai Bangkok Equipment & Chemical CO., Ltd., Thailand)
- 2.2.12 Micriplatewellplate (Nunclon<sup>®</sup>, Denmark)
- 2.2.13 Microplate reader (AccuReader<sup>®</sup>, Taiwan)
- 2.2.14 Microscope (OLYMPUS<sup>®</sup>, CKX41, USA)
- 2.2.15 Needle (Nipro<sup>®</sup>, Thai)
- 2.2.16 Refrigerated centrifuge (MPW-260R, Poland)
- 2.2.17 scanning electron microscope (SEM LEO 1450VP, EDAX<sup>®</sup>, USA)
- 2.2.18 Shaking incubator (Hercuvan<sup>®</sup>, Malaysia)
- 2.2.19 Single Syringe Pump (NEW ERA PumpSystemSInc., USA)
- 2.2.20 Syringe (Nipro<sup>®</sup>, Thai)
- 2.2.21 Texture analyzer (TA. XT Plus<sup>®</sup>, England)
- 2.2.22 Tips LTS 1 ml (RAININ<sup>®</sup>, USA)
- 2.2.23 UV-VIS Spectrophotometer (Hitachi<sup>®</sup> U-2900, Japan)
- 2.2.24 X-ray Diffactometer (MiniflexII<sup>®</sup>)
- 2.2.25 ขวดแก้ว (DURAN<sup>®</sup>, Germany)

### 3. ขั้นตอนการปฏิบัติงานในการวิจัย

3.1 การเตรียมเส้นใยพอลิเมอร์ของพอลิเมทิลเมทาไครเลต และพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่ผสมกับกรดโฟลิก โดยใช้เครื่องอิเล็กทรอนิกส์ป็นนึ่ง

3.1.1 หาสมภาวะที่เหมาะสมของพอลิเมทิลเมทาไครเลต (PMMA-120) โดยใช้เครื่องอิเล็กทรอนิกส์ป็นนึ่งให้ พอลิเมทิลเมทาไครเลต มีลักษณะเป็นเส้นใย

- 1) เตรียม PMMA-120 ใน DMF ให้ได้ความเข้มข้นคือ 20 % 23 % และ 25 % w/w คนให้เข้ากันจนกว่าจะละลายหมดโดยใช้ความร้อน 80 องศาเซลเซียส
- 2) นำสารทั้ง 3 ชุดจากข้อ 1) มาใส่กระบอบอกฉีดยาขนาด 5 ml และใช้หัวเข็มเบอร์ 20 อัตราการไหล 4 มิลลิลิตร/ชั่วโมง กำลังไฟ 15 kV ระยะห่าง 20 cm โดยใช้เวลาความเข้มข้นละ 1 ชั่วโมง

3.1.2 หาสมภาวะที่เหมาะสมของพอลิเมทิลเมทาไครเลต (PMMA-350) โดยใช้เครื่องอิเล็กทรอนิกส์ป็นนึ่งให้ พอลิเมทิลเมทาไครเลต มีลักษณะเป็นเส้นใย

- 1) เตรียม PMMA-350 ใน DMF ให้ได้ความเข้มข้นคือ 13 % 14 % และ 15 % w/w คนให้เข้ากันจนกว่าจะละลายหมดโดยใช้ความร้อน 80 องศาเซลเซียส
- 2) นำสารทั้ง 3 ชุดจากข้อ 1) มาใส่กระบอบอกฉีดยาขนาด 5 ml และใช้หัวเข็มเบอร์ 20 อัตราการไหล 4 มิลลิลิตร/ชั่วโมง กำลังไฟ 15 kV ระยะห่าง 14 cm โดยใช้เวลาความเข้มข้นละ 1 ชั่วโมง

3.1.3 หาความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดโฟลิก ที่ผสมกับ พอลิเมทิลเมทาไครเลต (PMMA-120) โดยใช้เครื่องอิเล็กทรอนิกส์ป็นนึ่ง

- 1) ใช้ตัวทำละลายDMFมาทำละลายพอลิเมทิลเมทาไครเลตโดยเตรียมที่ 23 % w/w และคนให้เข้ากันจนกว่าจะละลายหมดโดยใช้ความร้อน 80 องศาเซลเซียส ทั้งหมด 4 ชุด เพื่อใช้ในข้อ 2)
- 2) เติมกรดโฟลิก ที่ความเข้มข้น 0.15 % 0.25% และ 0.35 % w/w ลงในสาร 3 ชุดที่เตรียมจากข้อ 1) และมีสารชุดสุดท้ายเป็นชุดควบคุม
- 3) นำสารจากข้อ 2) มาใส่กระบอบอกฉีดยาขนาด 5 ml และใช้หัวเข็มเบอร์ 20 อัตราเร็ว 4 ml/ชั่วโมง กำลังไฟ 15 kV ระยะห่าง 20 cm

- 4) นำไปเข้าเครื่องอิเล็กทรอนิกส์ปืนนิ่ง ทำทั้งหมด 2 ครั้ง โดยครั้งแรกใช้ตัวรับแบบ static จะได้เส้นใยแบบสุ่ม (non-align) และครั้งที่สองใช้ drum collector ที่ความเร็ว 1,200 รอบต่อนาที จะได้เส้นใยแบบจัดเรียงตัว (align) โดยใช้เวลาความเข้มข้นละ 1 ชั่วโมง

#### 3.1.4 หาสภาวะที่เหมาะสมของกรดฟอสฟอริก ที่ผสมกับพอลิเมทิลเมทาไครเลต (PMMA-350) โดยใช้เครื่องอิเล็กทรอนิกส์ปืนนิ่ง

- 1) ใช้ตัวทำละลาย DMF มาทำละลายพอลิเมทิลเมทาไครเลตโดยเตรียมที่ 13 % w/w และคนให้เข้ากันจนกว่าจะละลายหมดโดยใช้ความร้อน 80 องศาเซลเซียส ทั้งหมด 4 ชุด เพื่อใช้ในข้อ 2)
- 2) เติมกรดฟอสฟอริก ที่ความเข้มข้น 0.15 % 0.25 % และ 0.35 % w/w ลงในสาร 3 ชุดที่เตรียมจากข้อ 1) และมีสารชุดสุดท้ายเป็นชุดควบคุม
- 3) นำสารจากข้อ 2) มาใส่กระบอกฉีดขนาด 5 ml และใช้หัวเข็มเบอร์ 20 อัตราเร็ว 4 มิลลิลิตร/ชั่วโมง กำลังไฟ 15 kV ระยะห่าง 14 cm
- 4) นำไปเข้าเครื่องอิเล็กทรอนิกส์ปืนนิ่ง ทำทั้งหมด 2 ครั้ง โดยครั้งแรกใช้ตัวรับแบบ static จะได้เส้นใยแบบสุ่ม (non-align) และครั้งที่สองใช้ drum collector ที่ความเร็ว 1,200 รอบต่อนาที จะได้เส้นใยแบบจัดเรียงตัว (align) โดยใช้เวลาชุดละ 1 ชั่วโมง

### 3.2 การทดสอบคุณลักษณะของเส้นใยพอลิเมอร์ของพอลิเมทิลเมทาไครเลต และพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่มีกรดฟอสฟอริกที่ความเข้มข้นต่างๆ

#### 3.2.1 ทดสอบสัณฐานวิทยาของเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (scanning electron microscope: SEM) เพื่อวัดขนาดและพิจารณารูปร่างของเส้นใยนา

- 1) ตัดตัวอย่างให้ได้ขนาด  $0.5 \times 0.5$  เซนติเมตร
- 2) ติดตัวอย่างบน stub
- 3) นำตัวอย่างเคลือบด้วยทองคำด้วยเครื่อง Sputter coat (Polaron Range รุ่น sputter coater 7620)
- 4) นำตัวอย่างไปส่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (รุ่น LEO 1450VP) ด้วยกำลังขยาย 2,000 และ 5,000 เท่า

- 5) นำรูปจากกล้อง SEM มาวิเคราะห์เส้นผ่านศูนย์กลางด้วยโปรแกรม JMicroVision 1.2.7

3.2.2 Infrared Spectroscopy ของพอลิเมทิลเมทาไครเลต เปรียบเทียบระหว่างผงพอลิเมทิลเมทาไครเลต (PMMA powder) เส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตและ เส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่ผสมกรดโฟลิกที่ผ่านการอิเล็กโทรสปินนิ่ง

- 1) นำโพแทสเซียมโบรไมด์ (KBr) บดผสมในโถงให้ละเอียดและนำมาตอกให้เป็นแผ่นด้วยชุดแม่พิมพ์เครื่องตอกเพื่อทำเป็น background
- 2) นำ KBr มาบดผสมในโถงกับผง PMMA-120 และ PMMA-350 ในอัตราส่วน PMMA/KBr 1:10 จากนั้นนำมาตอกเป็นแผ่นด้วยชุดแม่พิมพ์เครื่องตอกเพื่อทำเป็น ตัวอย่างที่ 1 และตัวอย่างที่ 2 ตามลำดับ
- 3) นำ KBr มาบดผสมในโถงกับผงกรดโฟลิก อัตราส่วน PMMA/KBr 1:10 จากนั้นนำมาตอกเป็นแผ่นด้วยชุดแม่พิมพ์เครื่องตอกเพื่อทำเป็น ตัวอย่างที่ 3
- 4) นำ KBr มาบดผสมในโถงกับเส้นใย PMMA-120 และ เส้นใย PMMA-350 ในอัตราส่วน PMMA/KBr 1:10 จากนั้นนำมาตอกเป็นแผ่นด้วยชุดแม่พิมพ์เครื่องตอกเพื่อทำเป็น ตัวอย่างที่ 4 และ ตัวอย่างที่ 5 ตามลำดับ
- 5) นำ KBr มาบดผสมในโถงกับเส้นใย PMMA-120/FA และ เส้นใย PMMA-350/FA ในอัตราส่วน PMMA/KBr 1:10 จากนั้นนำมาตอกเป็นแผ่นด้วยชุดแม่พิมพ์เครื่องตอกเพื่อทำเป็น ตัวอย่างที่ 5 และ ตัวอย่างที่ 6 ตามลำดับ
- 6) นำแผ่นตัวอย่างไปเข้าเครื่อง Fourier transform infrared spectroscopy รุ่น Nicolet 6700 FT-IR และใช้ความยาวคลื่นที่  $400\text{ cm}^{-1}$  ถึง  $4,000\text{ cm}^{-1}$  โดยใช้ KBr เป็น background ทำการวัดตัวอย่างซ้ำอย่างละ 3 ครั้ง โดยวัด background ก่อนทุกครั้ง
- 7) เปรียบเทียบความแตกต่างของ PMMA-120 PMMA-350 PMMA-120 /FA PMMA-350/FA และกรดโฟลิก

3.2.3 ทดสอบการเปลี่ยนแปลงทางความร้อนของสารตัวอย่างโดยใช้เครื่อง Differential scanning calorimetry (DSC) เพื่อทดสอบคุณสมบัติความเข้ากัน (miscible blend) ของพอลิเมทิล เมทาไครเลตและกรดโฟลิก

- 1) เตรียมสารตัวอย่าง ได้แก่ เส้นใย PMMA-120 PMMA-350 PMMA-120/FA PMMA-350/FA และผงกรดโฟลิก ตัวอย่างละ 5 มิลลิกรัม
  - 2) บรรจุสารตัวอย่าง 5 มิลลิกรัม ลงในภาชนะบรรจุสาร (pan) แล้วทำการอัดแน่นจนอากาศไม่สามารถเข้าไปได้ แล้วนำไปใส่ในเตา (Furnace) ของเครื่อง DSC ซึ่งมี 2 เตา โดยเตาที่ 1 สำหรับใส่ภาชนะเปล่าเพื่อเป็นตัวอ้างอิง และเตาที่ 2 ใช้สำหรับใส่ภาชนะที่บรรจุสารตัวอย่างเพื่อทำการทดสอบ
  - 3) กำหนดความเร็ว 10 องศาเซลเซียสต่อนาที อุณหภูมิ 50-250 องศาเซลเซียส
  - 4) เริ่มทำการเดินเครื่อง DSC และเปิดก๊าซไนโตรเจนเข้าสู่ระบบ
  - 5) ปิดวาล์วถึงก๊าซไนโตรเจนและนำภาชนะบรรจุสารตัวอย่างออกจากเตาเครื่อง DSC บันทึกข้อมูล และทดสอบตัวอย่าง โดยทำการกราฟระหว่าง อุณหภูมิ (Temperature) และ อัตราความร้อน (Heat flow)
- 3.2.4 ศึกษาารูปแบบโครงสร้างผลึกของเส้นใยด้วยเครื่อง powder X-Ray diffraction (PXRD)
- 1) เตรียมเส้นใย PMMA-120 PMMA-350 PMMA-120/FA PMMA-350/FA (5 x 5 เซนติเมตร) และผงกรดโฟลิกที่บดแล้ว
  - 2) นำมาอัดในช่องกลางของแผ่นยึดสารตัวอย่าง เคลือบผิวหน้าด้านบนของสารให้เรียบ
  - 3) ตั้งค่าเครื่อง 4 theta ต่อ 1 นาที โดยเริ่มที่ 5 theta ถึง 45 theta
  - 4) นำเข้าเครื่อง XRD เพื่อนำไปวิเคราะห์หาโครงสร้างของสาร
  - 5) นำข้อมูลที่ได้ไปทำการกราฟระหว่าง Intensity กับ 2 theta และเปรียบเทียบระหว่างผงกรดโฟลิก กับเส้นใยที่มีและไม่มีกรดโฟลิก
- 3.2.5 ทดสอบคุณสมบัติเชิงกลด้วยเครื่อง texture analyzer
- 1) ม้วนแผ่นเส้นใยเป็นทรงกระบอก และติดเทปหุ้มท้ายโดยให้มีระยะห่าง 2.5 เซนติเมตร และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 มิลลิเมตร
  - 2) นำไปดึงด้วยเครื่อง Texture analyzer และหาค่าความเครียด ความเค้น และมอดุลัสของยัง (young's modulus) ของแผ่นเส้นใย



3.2.6 ทดสอบความชอบน้ำด้วยเครื่อง Drop Shape Analyzer โดยวัดจากมุมสัมผัสระหว่างน้ำกับแผ่นเส้นใย

- 1) หยดน้ำกลั่นลงบนแผ่นตัวอย่าง โดยปรับพารามิเตอร์เป็น พื้นผิวสัมผัสขนาด 0.2 ตารางมิลลิเมตร ขนาดกว้าง 1 เซนติเมตรหนา 0.02 มิลลิเมตร ยาว 2 เซนติเมตร
- 2) ถ่ายภาพก่อนและหลังอย่างละ 5 ภาพ ทุกๆ 1 วินาทีและวัดมุมองศาระหว่างหยดน้ำและผิวของแผ่นตัวอย่าง

3.3 การตรวจสอบปริมาณกรดฟอลิกที่อยู่ในเส้นใย

3.3.1 การเตรียมสารละลายตัวอย่างของเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่ผสมกับกรดฟอลิก

- 1) นำแผ่นตัวอย่างมาซึ่งให้น้ำหนัก 20 mg และนำไปละลายในฟอสเฟสบัฟเฟอร์ผสมไดโพลแทสเซียมฟอสเฟต 3% w/v ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็ว 100 รอบ/นาที เป็นระยะเวลา 1 อาทิตย์

3.3.2 ตรวจสอบปริมาณกรดฟอลิกในเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลต ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer ที่ 281 นาโนเมตร

- 1) ทำ calibration curve ของกรดฟอลิก
- 2) สร้างกราฟมาตรฐาน (standard curve) โดยใช้สูตร

ความเข้มข้นของยา(ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) = (ค่าดูดกลืนแสง x ความชัน)÷จุดตัดแกนความเข้มข้นของยา

- 3) คำนวณหาร้อยละของกรดฟอลิกในเส้นใยตามสมการที่ 1

$$\text{Content (\%)} = \frac{\text{ปริมาณยาที่วัดได้}}{\text{ปริมาณเส้นใย}} \times 100 \quad (1)$$

### 3.4 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ทางอ้อม (Indirect cytotoxic test)

#### 3.4.1 การเตรียมเซลล์

- 1) นำเซลล์ชวามันมาเลี้ยงใน Cell Culture Flasks โดยใช้ DMEM(+) เป็นอาหารเลี้ยงเซลล์ บ่มใน CO<sub>2</sub> Incubator นาน 3 วัน
- 2) ดูดสารละลาย DMEM(+) ออกจาก Cell Culture Flasks และล้างด้วย PBS 1 รอบ
- 3) ใช้เอนไซม์ Trypsin เพื่อย่อยเซลล์จาก Cell Culture Flasks และดูดสารใส่ centrifuge tube 1 ml แล้วนำเข้าเครื่อง Refrigerated centrifuge รุ่น MPW-260R ความเร็ว 3000 รอบ/นาที นาน 3 นาที
- 4) ดูดส่วนใส (supernatant) ออก และใส่ DMEM(+) แทนที่ และเจือจางเซลล์ให้ได้ 8000 เซลล์/100 ไมโครลิตร

#### 3.4.2 การทดสอบร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์

- 1) นำเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตน้ำหนัก 30 มิลลิกรัมมาทำปราคาจากเชื้อโดยใช้รังสี ยูวี 1 ชั่วโมง
- 2) นำสารจากข้อ 1) ไปใส่ Centrifuge tube แล้วผสมกับ Serum free Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)(-) 3 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 3) นำสารจากข้อ 2) ไปเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 10, 7.5, 5 2, 5 และ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
- 4) นำเซลล์ชวามันที่อยู่ในสารละลาย DMEM (+) ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ไปใส่ใน 96 เวลเพลท (จำนวน 8,000 เซลล์/หลุม) แล้วนำไปบ่ม 24 ชั่วโมง
- 5) ดูดสารละลาย DMEM (+) ออกจาก 96 เวลเพลทและใส่ สารจากข้อ 3 ไปแทนที่ แล้วนำไปบ่มต่อ 24 ชั่วโมง
- 6) ดูดสารละลายตัวอย่างจากข้อ 5 ออกแล้วใส่ สารละลาย Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide (MTT) ปริมาณ 25

ไมโครลิตร ไปแทนที่ บ่ม 4 ชั่วโมง จากนั้นดูดสารละลาย MTTออกแล้วล้างด้วยฟอสเฟสบัฟเฟอร์แล้วดูดออก

7) ใส่สารละลาย dimethyl sulfoxide (DMSO) ปริมาณ 100 ไมโครลิตร เพื่อละลายผลึก formazan

8) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร

9) นำมาคำนวณ % Cell Viability ดังสมการที่ 2

$$\% \text{ Cell viability} = \frac{A_{\text{treatment}} - A_{\text{blank}}}{A_{\text{control}} - A_{\text{blank}}} \times 100 \quad (2)$$

(A = absorbance)

### 3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

การทดลองทั้งหมดจะทำซ้ำ 3 ครั้ง แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วน

เบี่ยงเบนมาตรฐานในหัวข้อ 3.2 3.3 และ 3.4 ใช้สถิติ One-way ANOVA ด้วย

โปรแกรม Excel 2016 ที่ P value (0.05)

## บทที่ 4

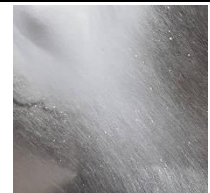
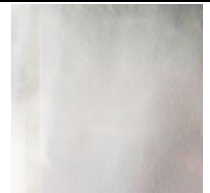
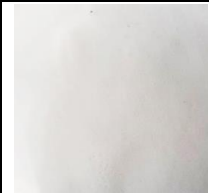
### ผลการวิจัย

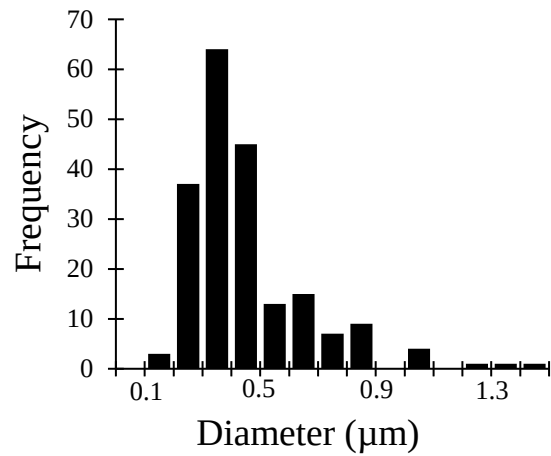
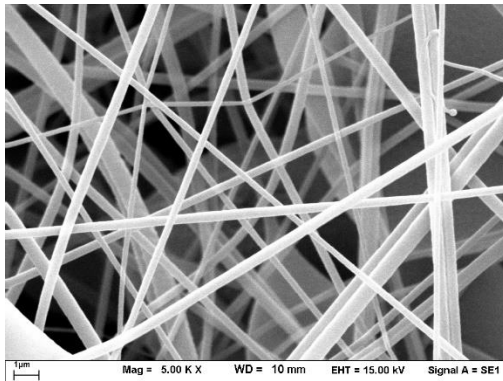
1. ศึกษาความเป็นไปได้เบื้องต้นของชนิดสารละลายพอลิเมอร์และความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ที่เหมาะสมก่อนเตรียมเป็นแผ่นเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่ผสมกับกรดโฟลิก

ตารางที่ 6 ลักษณะทางกายภาพของแผ่นเส้นใย PMMA-120 ที่ความเข้มข้นต่างๆในตัวทำละลาย DMF

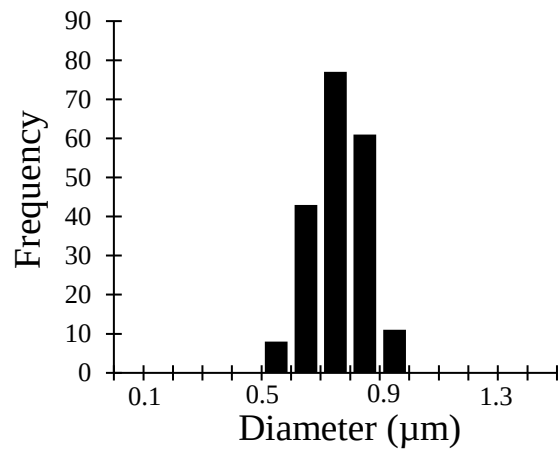
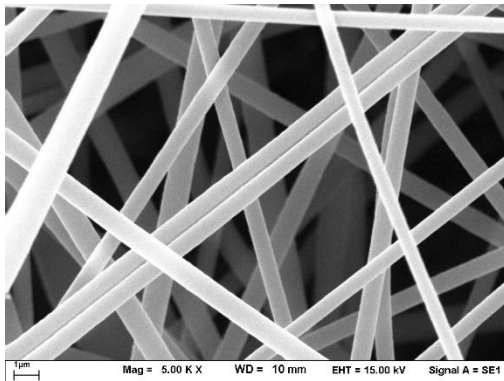
| ความเข้มข้นของ PMMA-120 ในสารละลาย DMF (% w/w)                                     |                                                                                    |                                                                                     |                                                                                      |                                                                                      |
|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| 15                                                                                 | 20                                                                                 | 23                                                                                  | 25                                                                                   | 30                                                                                   |
|  |  |  |  |  |

ตารางที่ 7 ลักษณะทางกายภาพของแผ่นเส้นใย PMMA-350 ที่ความเข้มข้นต่างๆในตัวทำละลาย DMF

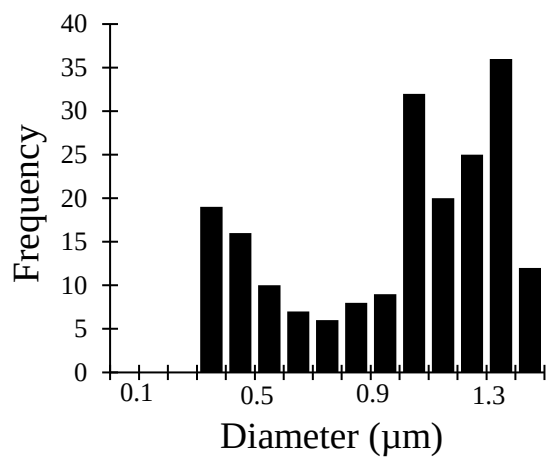
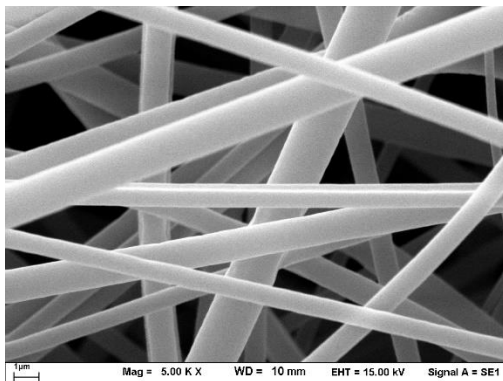
| ความเข้มข้นของ PMMA-350 ในสารละลาย DMF (% w/w)                                      |                                                                                     |                                                                                      |                                                                                       |                                                                                       |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| 10                                                                                  | 13                                                                                  | 14                                                                                   | 15                                                                                    | 20                                                                                    |
|  |  |  |  |  |



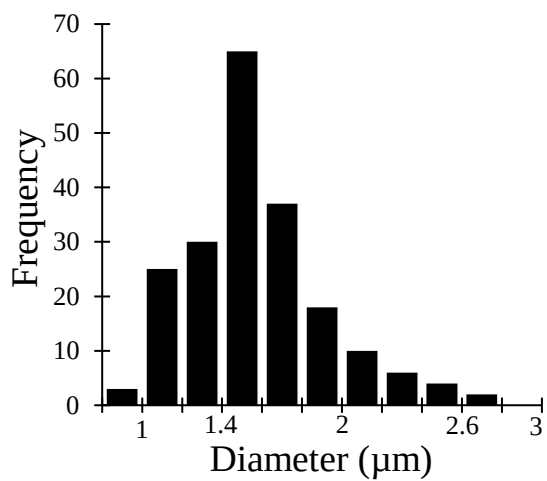
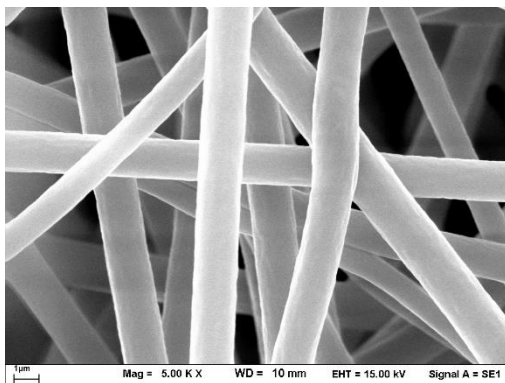
รูปที่ 6 ลักษณะทางกายภาพ ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า ) และฮิสโทแกรมแสดงผลเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใย PMMA-120 ที่ความเข้มข้น 20 % w/w



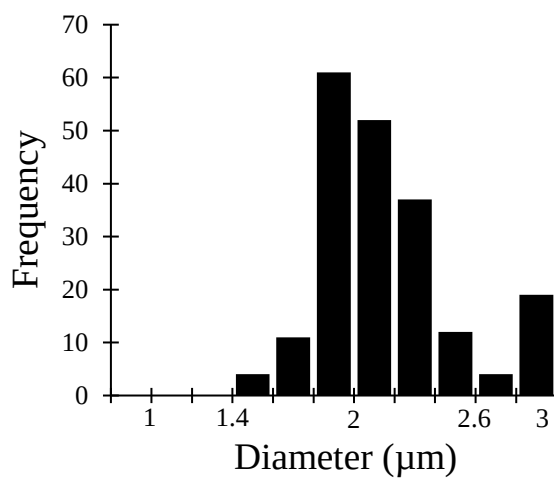
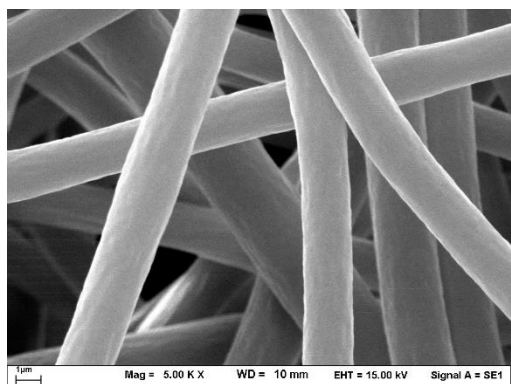
รูปที่ 7 ลักษณะทางกายภาพ ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า ) และฮิสโทแกรมแสดงผลเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใย PMMA-120 ที่ความเข้มข้น 23 % w/w



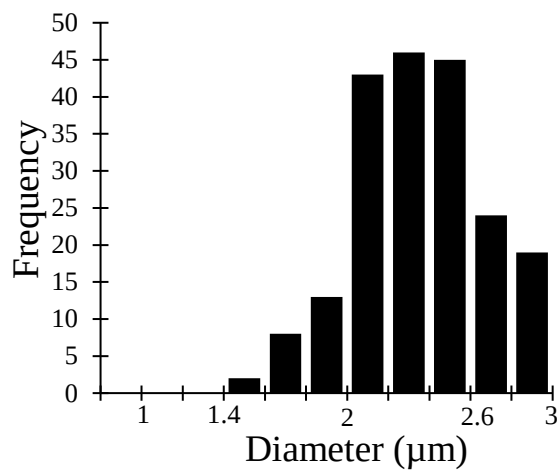
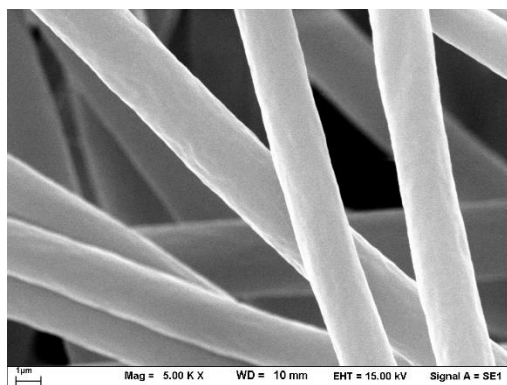
รูปที่ 8 ลักษณะทางกายภาพ ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า ) และฮิสโทแกรมแสดงผลเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใย PMMA-120 ที่ความเข้มข้น 25 % w/w



รูปที่ 9 ลักษณะทางกายภาพ ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า ) และฮิสโทแกรมแสดงผลเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใย PMMA-350 ที่ความเข้มข้น 13 % w/w



รูปที่ 10 ลักษณะทางกายภาพ ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า ) และฮิสโทแกรมแสดงผลเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใย PMMA-350 ที่ความเข้มข้น 14 % w/w



รูปที่ 11 ลักษณะทางกายภาพ ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า ) และฮิสโทแกรมแสดงผลเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใย PMMA-350 ที่ความเข้มข้น 15 % w/w

ตารางที่ 8 ลักษณะและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเมื่อถ่ายภาพด้วย scanning electron microscope (SEM) ของเส้นใย PMMA-120 ในสารละลาย DMF

| PMMA-120<br>(% w/w ) | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง<br>เฉลี่ย (นาโนเมตร) | ลักษณะเส้นใย                                       |
|----------------------|--------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| 20                   | $458.50 \pm 238.62$                        | เส้นใยสีขาว มีลักษณะฟูคล้าย<br>สำลีและเปราะบางมาก  |
| 23                   | $759.33 \pm 88.13$                         | เส้นใยสีขาว มีลักษณะฟูคล้าย<br>สำลีและเปราะบาง     |
| 25                   | $1119.67 \pm 413.55$                       | เส้นใยสีขาว มีลักษณะฟูคล้าย<br>สำลีและเปราะบางน้อย |

ตารางที่ 9 ลักษณะและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเมื่อถ่ายภาพด้วย scanning electron microscope (SEM) ของเส้นใย PMMA-350 ในสารละลาย DMF

| PMMA-350<br>(% w/w ) | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง<br>เฉลี่ย (นาโนเมตร) | ลักษณะเส้นใย                                                  |
|----------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| 13                   | $1567.17 \pm 326.61$                       | เส้นใยสีขาว เกาะกันแน่นเป็นชั้น<br>ไม่เปราะบาง มีความยืดหยุ่น |
| 14                   | $2172.30 \pm 384.53$                       | เส้นใยสีขาว เกาะกันแน่นเป็นชั้น<br>ไม่เปราะบาง มีความยืดหยุ่น |
| 15                   | $2355.17 \pm 333.41$                       | เส้นใยสีขาว เกาะกันแน่นเป็นชั้น<br>ไม่เปราะบาง มีความยืดหยุ่น |



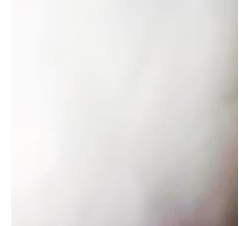
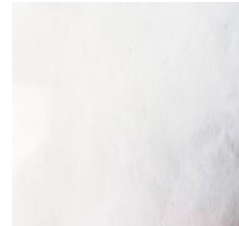
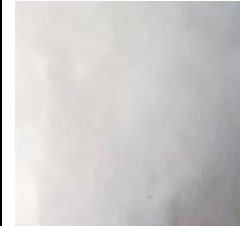
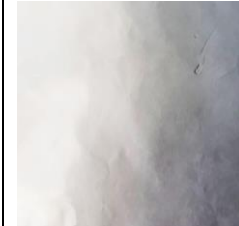
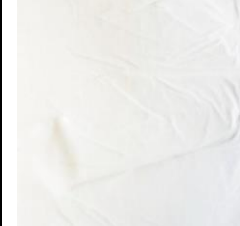
พอลิเมอร์ที่เลือกใช้คือ พอลิเมทิลเมทาไครเลต (PMMA) 2 มวลโมเลกุลคือ 120,000 และ 350,000 โดยพบว่าความเข้มข้นของพอลิเมทิลเมทาไครเลต มวลโมเลกุล 120,000 (PMMA-120) ในสารละลาย DMF 23 % w/w มีความเหมาะสมมากที่สุดที่จะนำมาเตรียมแผ่นเส้นใย และ พอลิเมทิลเมทาไครเลตมวลโมเลกุล 350,000 (PMMA-350) ในสารละลาย DMF 13 % w/w มีความเหมาะสมมากที่สุดที่จะนำมาเตรียมแผ่นเส้นใยดัง ตารางที่ 6 – 7 และรูปที่ 4 – 9 ดังนั้น คณะผู้วิจัยจึงเลือกความเข้มข้นดังกล่าว คือ PMMA -120 ที่ 23 % w/w และ PMMA-350 ที่ 13 % w/w มาผสมกับกรดฟอสฟอริก

2. ศึกษาคุณสมบัติของแผ่นเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตมวลโมเลกุล 120,000 ผสมกับกรดฟอสฟอริก (PMMA-120/FA) และ พอลิเมทิลเมทาไครเลตมวลโมเลกุล 350,000 ผสมกับกรดฟอสฟอริก (PMMA-350/FA) ณ ความเข้มข้นต่างๆ

2.1 ลักษณะทางกายภาพของแผ่นเส้นใย PMMA-120/FA และ PMMA-350/FA ที่ความเข้มข้นต่างๆ

ตารางที่ 10 แสดงภาพถ่ายลักษณะทางกายภาพของแผ่นเส้นใย PMMA-120/FA และ

PMMA-350/FA ที่ผสมกับกรดฟอสฟอริก ณ ความเข้มข้น 0 % 0.15 % 0.25 % และ 0.35 % w/w

| น้ำหนักโมเลกุล<br>ของพอลิเมอร์ | ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริก (% w/w )                                                  |                                                                                     |                                                                                       |                                                                                       |
|--------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
|                                | 0                                                                                   | 0.15                                                                                | 0.25                                                                                  | 0.35                                                                                  |
| 120,000<br>(23% w/w )          |  |  |  |  |
| 350,000<br>(13% w/w )          |  |  |  |  |

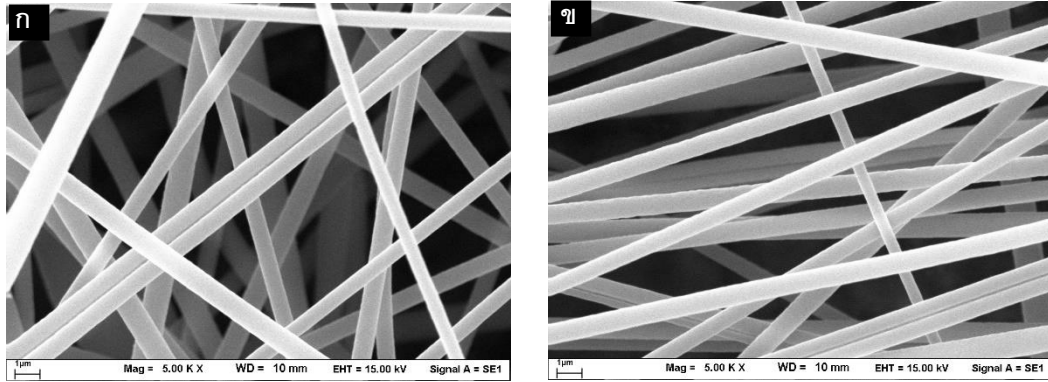
2.2 ศึกษาสัณฐานวิทยา ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยด้วยเครื่อง scanning electron microscope (SEM) และเปรียบเทียบระหว่าง non alignment และ alignment ที่กำลังขยาย 5,000 เท่าแสดงดังตารางที่ 11 และ 12

ตารางที่ 11 ลักษณะและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเมื่อถ่ายภาพด้วย scanning electron microscope (SEM) ของเส้นใย PMMA-120/FA ณ ความเข้มข้น 0.15 % 0.25 % 0.35 % w/w และ PMMA-120

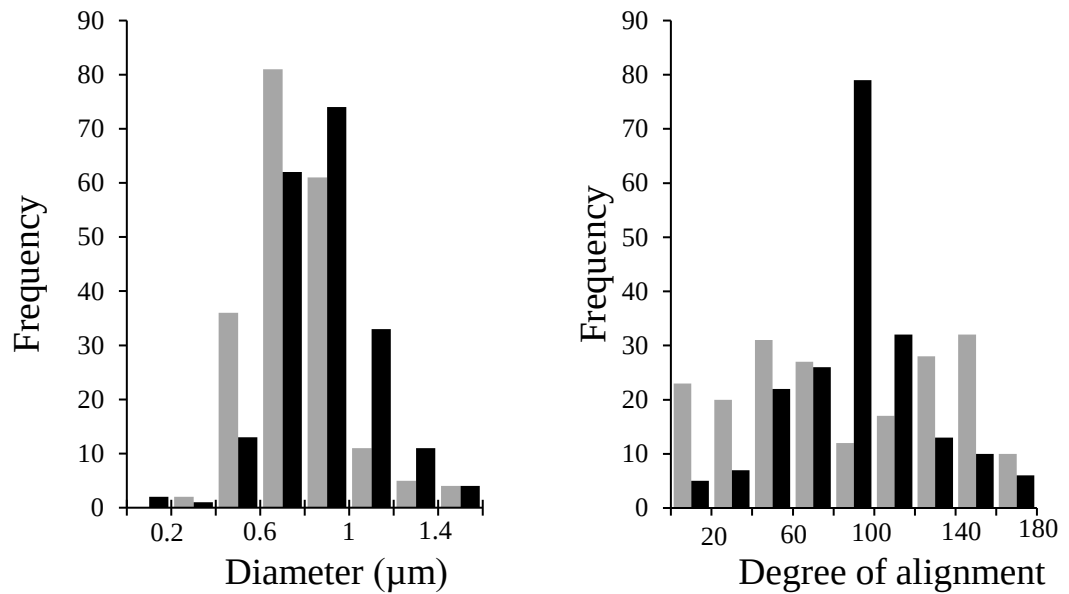
| ความเข้มข้นของกรดโฟลิก (% w/w) | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย (นาโนเมตร) | ลักษณะเส้นใย                                                      |
|--------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| 0                              | 767.01 ± 209.35                        | เส้นใยสีขาว มีลักษณะฟูคล้ายสำลีและเปราะบาง                        |
| 0.15                           | 893.42 ± 212.65                        | เส้นใยสีเหลืองอ่อนค่อนข้างโปร่งขาว มีลักษณะฟูคล้ายสำลีและเปราะบาง |
| 0.25                           | 793.38 ± 181.77                        | เส้นใยสีเหลืองอ่อน มีลักษณะฟูคล้ายสำลีและเปราะบาง                 |
| 0.35                           | 746.59 ± 179.20                        | เส้นใยสีเหลืองอ่อน มีลักษณะฟูคล้ายสำลีและเปราะบาง                 |

ตารางที่ 12 ลักษณะและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใย PMMA-350/FA ณ ความเข้มข้น 0.15 % 0.25 % 0.35 % w/w และเส้นใย PMMA-350

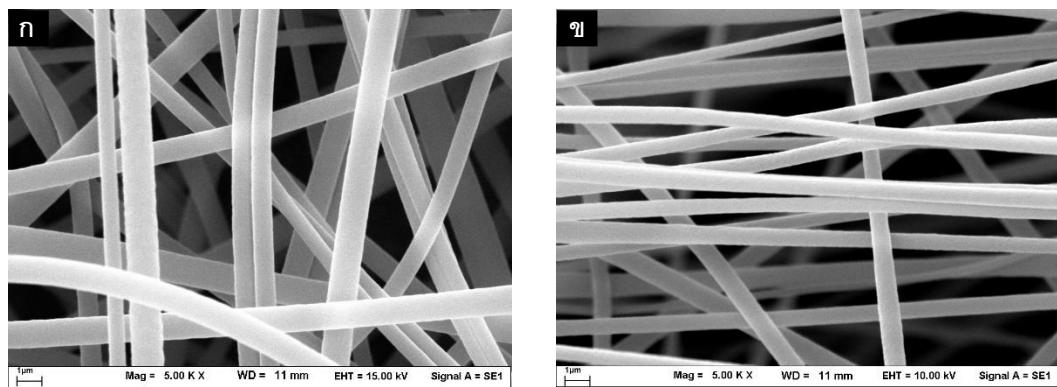
| ความเข้มข้นของ<br>กรดฟอลิก (% w/w) | ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง<br>เฉลี่ย (นาโนเมตร) | ลักษณะเส้นใย                                                               |
|------------------------------------|--------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| 0                                  | 1504.65 ± 229.32                           | เส้นใยสีขาว เกาะกันแน่นเป็นชั้นๆ<br>ไม่เปราะบาง มีความยืดหยุ่น             |
| 0.15                               | 1464.98 ± 213.55                           | เส้นใยสีเหลืองอ่อน เกาะกันแน่น<br>เป็นชั้นๆ ไม่เปราะบาง มีความ<br>ยืดหยุ่น |
| 0.25                               | 1366.84 ± 205.03                           | เส้นใยสีเหลืองอ่อน เกาะกันแน่น<br>เป็นชั้นๆ ไม่เปราะบาง มีความ<br>ยืดหยุ่น |
| 0.35                               | 1457.12 ± 211.23                           | เส้นใยสีเหลืองอ่อน เกาะกันแน่น<br>เป็นชั้นๆ ไม่เปราะบาง มีความ<br>ยืดหยุ่น |



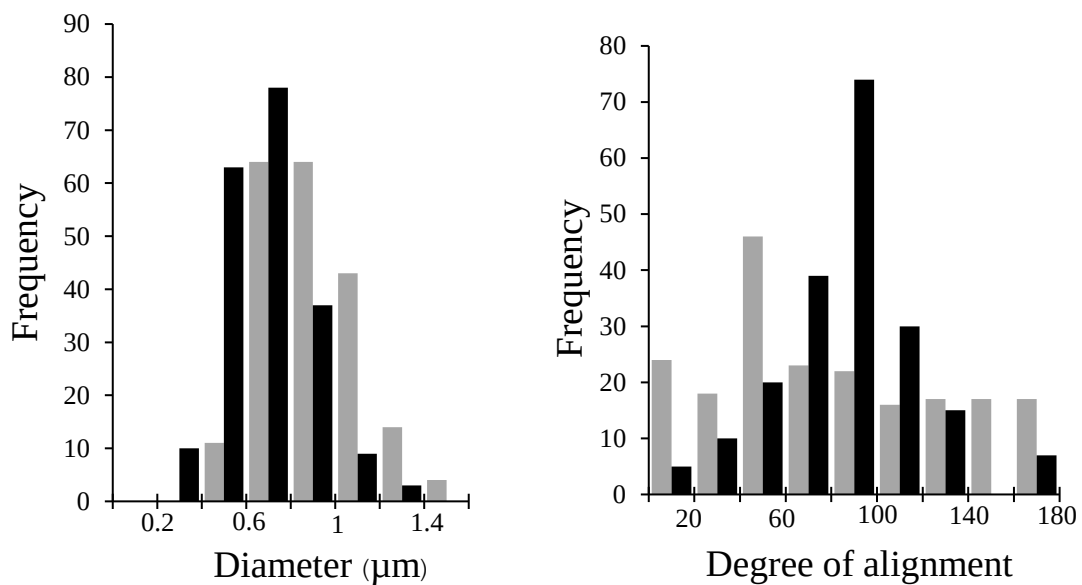
รูปที่ 12 ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า ) เส้นใย PMMA-120/FA ความเข้มข้น 0%  
เปรียบเทียบระหว่าง (ก) non alignment และ (ข) alignment



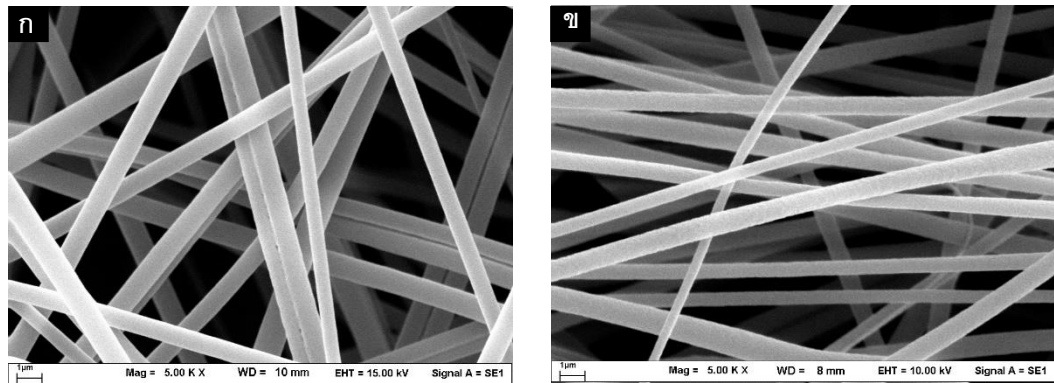
รูปที่ 13 กราฟเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและองศาการจัดเรียงของเส้นใย PMMA-120/FA  
ความเข้มข้น 0% เปรียบเทียบระหว่าง ■ non alignment และ ■ alignment



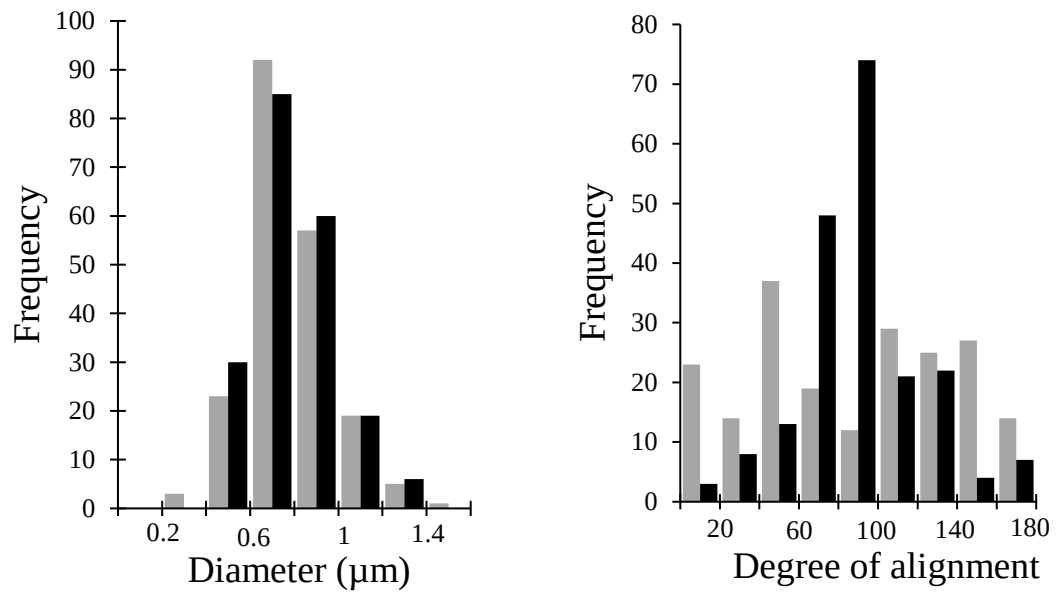
รูปที่ 14 ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า) เส้นใย PMMA-120/FA ความเข้มข้น 0.15 %  
เปรียบเทียบระหว่าง (ก) non alignment และ (ข) alignment



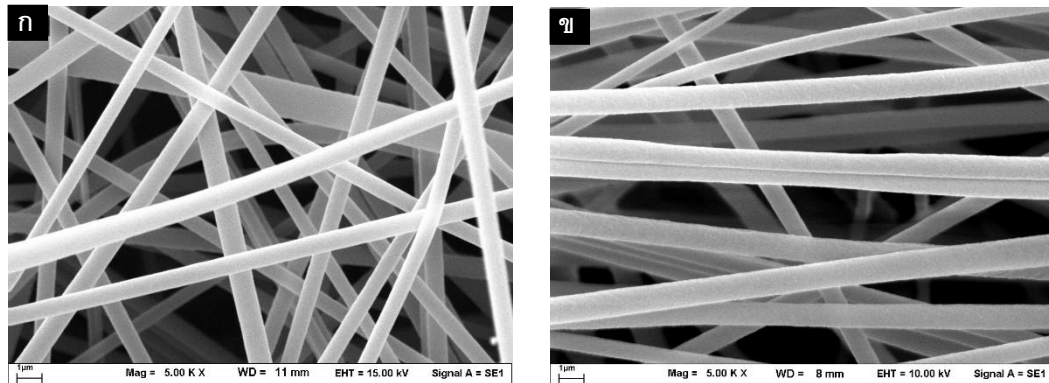
รูปที่ 15 กราฟเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและองศาการจัดเรียงของเส้นใย PMMA-120/FA  
ความเข้มข้น 0.15 % ระหว่าง ■ non alignment และ ■ alignment



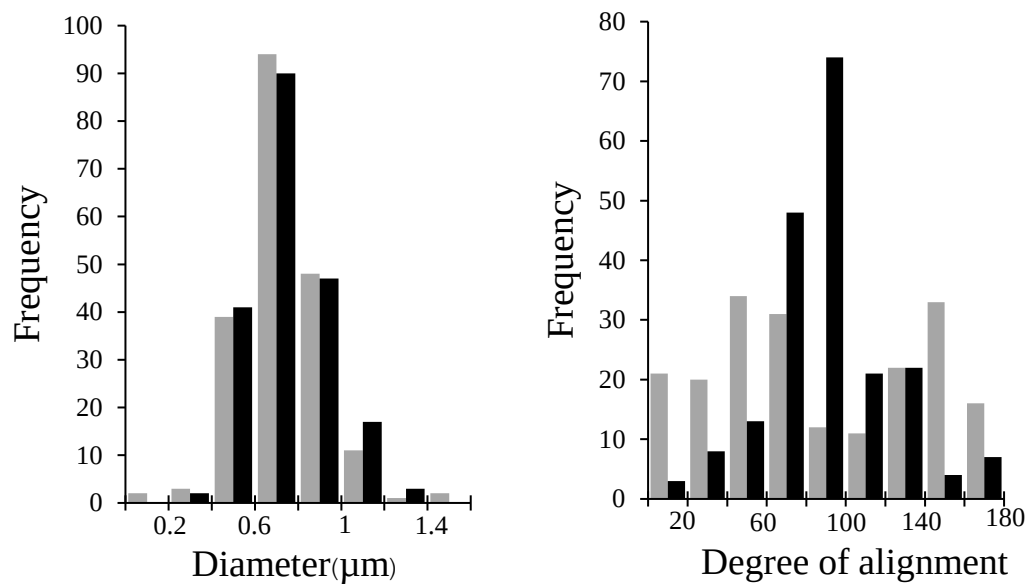
รูปที่ 16 ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า) เส้นใย PMMA-120/FA ความเข้มข้น 0.25 %  
เปรียบเทียบระหว่าง (ก) non alignment และ (ข) alignment



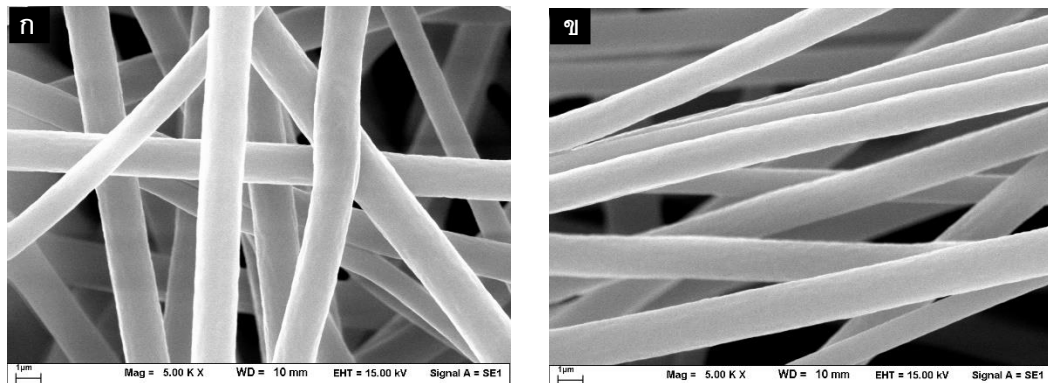
รูปที่ 17 กราฟเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและองศาการจัดเรียงของเส้นใย PMMA-120/FA  
ความเข้มข้น 0.25 % ระหว่าง ■ non alignment และ ■ alignment



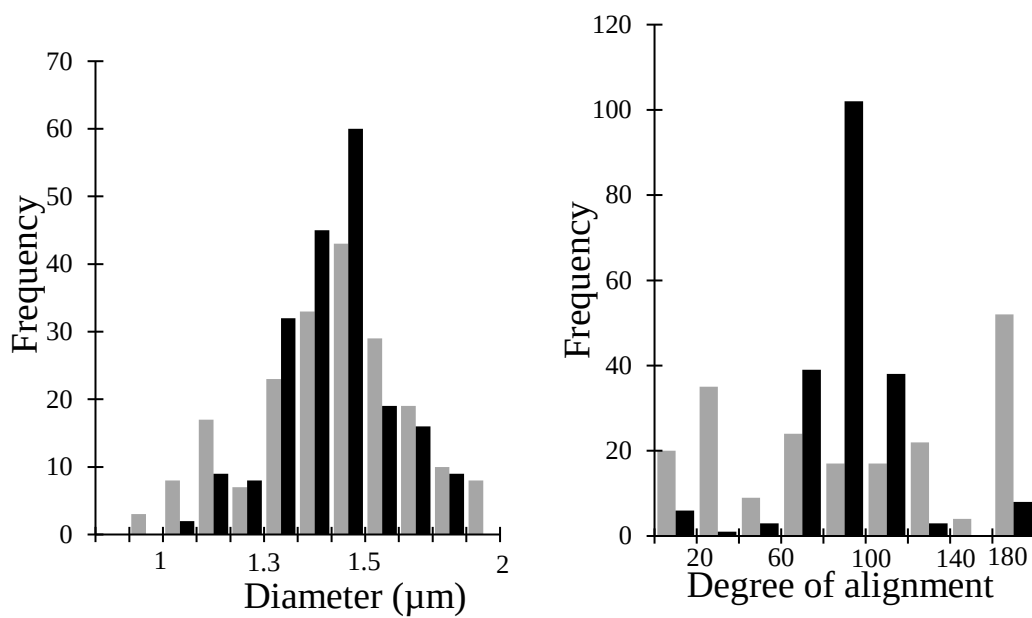
รูปที่ 18 ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า) เส้นใย PMMA-120/FA ความเข้มข้น 0.35 %  
เปรียบเทียบระหว่าง (ก) non alignment และ (ข) alignment



รูปที่ 19 กราฟเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและองศาการจัดเรียงของเส้นใย PMMA-120/FA  
ความเข้มข้น 0.35 % ระหว่าง ■ non alignment และ ■ alignment

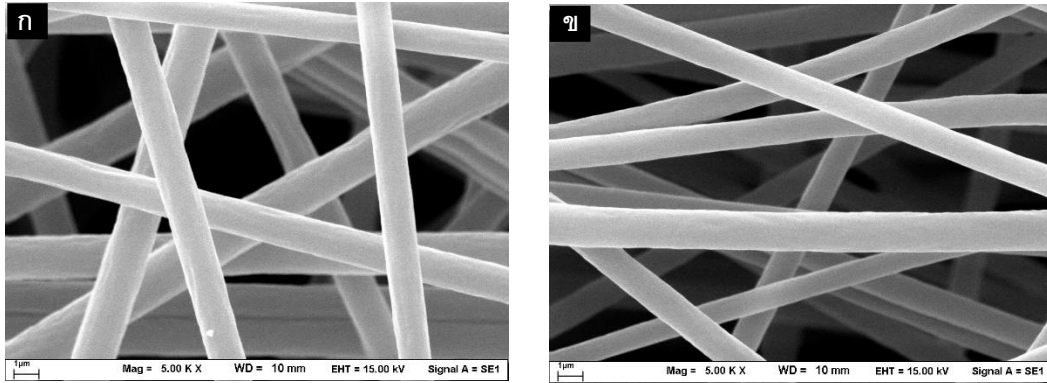


รูปที่ 20 ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า) เส้นใย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 0 %  
เปรียบเทียบระหว่าง (ก) non alignment และ (ข) alignment

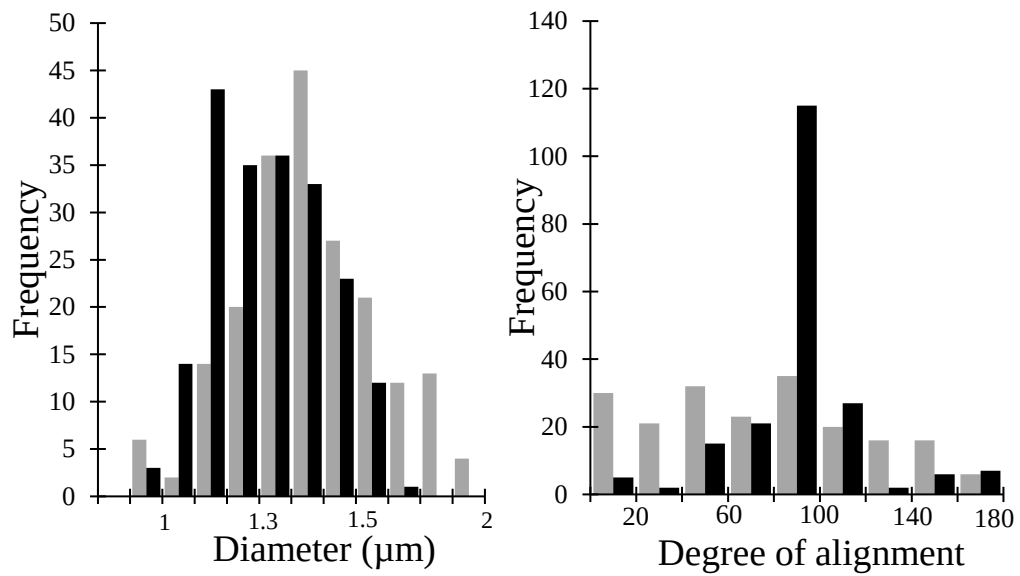


รูปที่ 21 กราฟเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและองศาการจัดเรียงของเส้นใย PMMA-350/FA  
ความเข้มข้น 0 % ■ non alignment และ ■ alignment

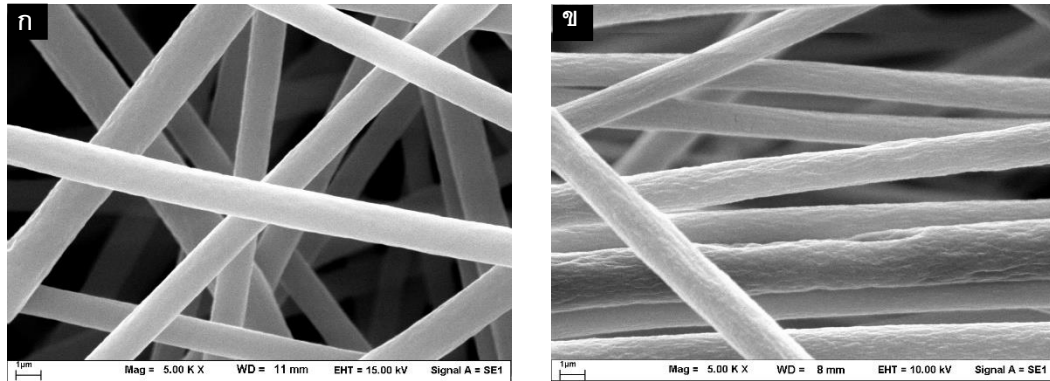




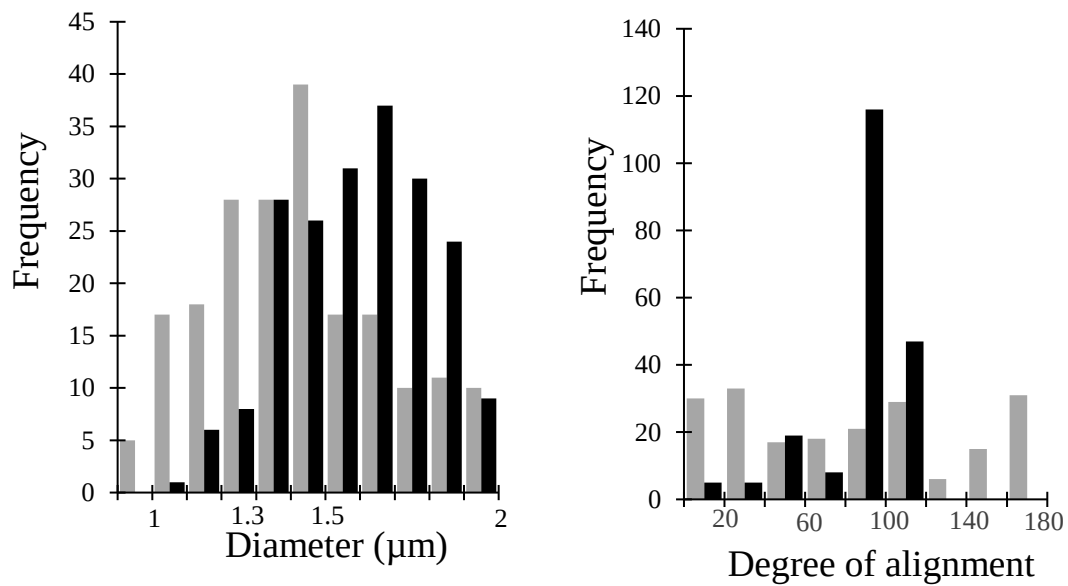
รูปที่ 22 ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า) เส้นใย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 0.15 % เปรียบเทียบระหว่าง (ก) non alignment และ (ข) alignment



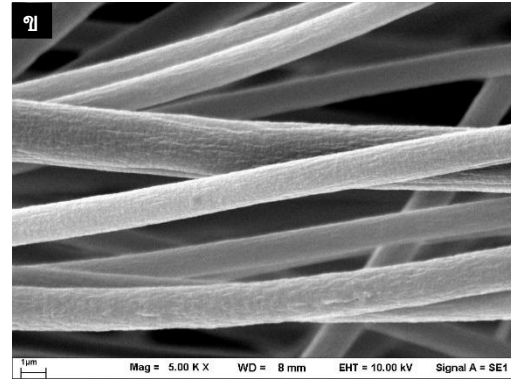
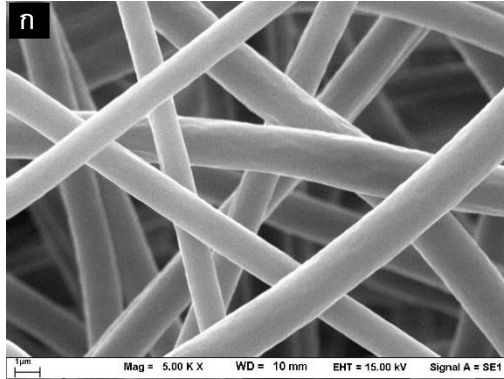
รูปที่ 23 กราฟเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและองศาการจัดเรียงของเส้นใย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 0.15 % ระหว่าง ■ non alignment และ ■ alignment



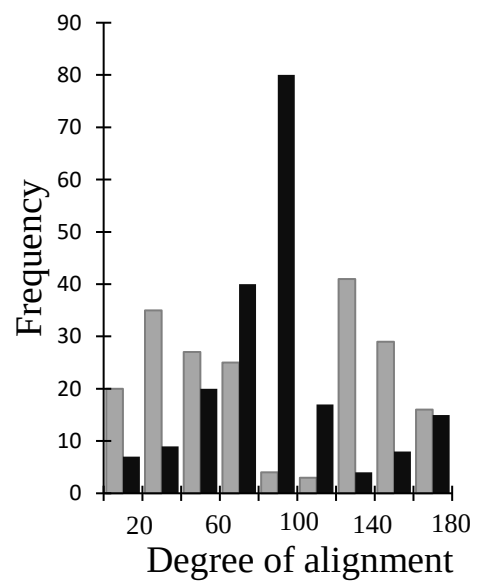
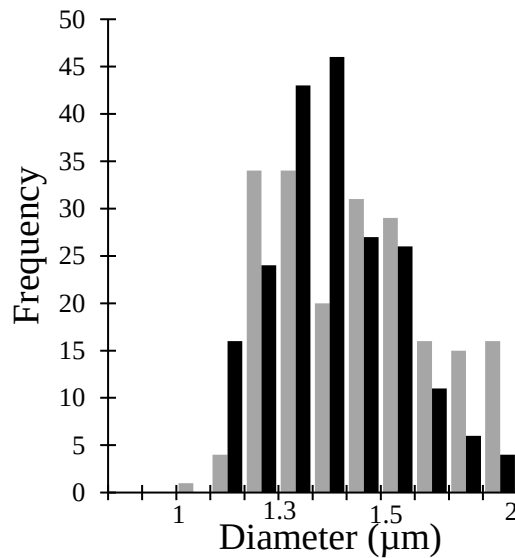
รูปที่ 24 ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า) เส้นใย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 0.25 %  
เปรียบเทียบระหว่าง (ก) non alignment และ (ข) alignment



รูปที่ 25 กราฟเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและองศาการจัดเรียงของเส้นใย PMMA-350/FA  
ความเข้มข้น 0.25 % ระหว่าง ■ non alignment และ ■ alignment

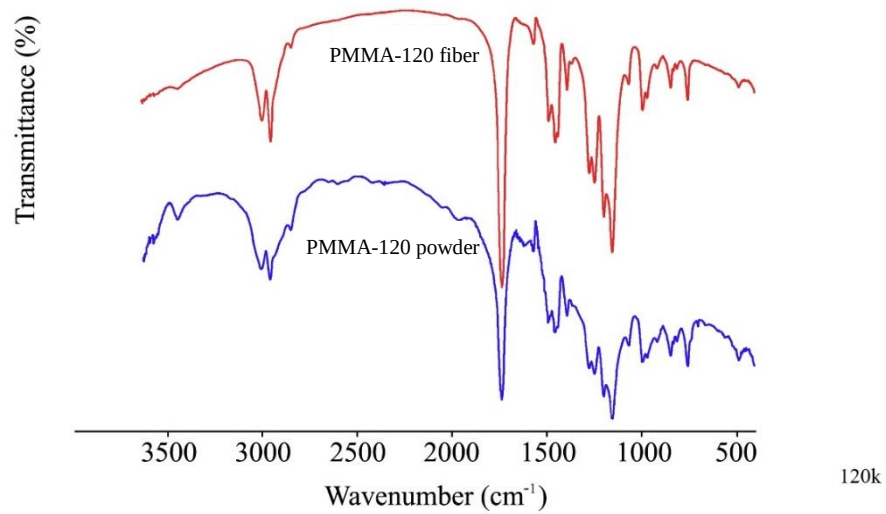


รูปที่ 26 ภาพถ่าย SEM (กำลังขยาย 5,000 เท่า) เส้นใย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 0.35 %  
เปรียบเทียบระหว่าง (ก) non alignment และ (ข) alignment

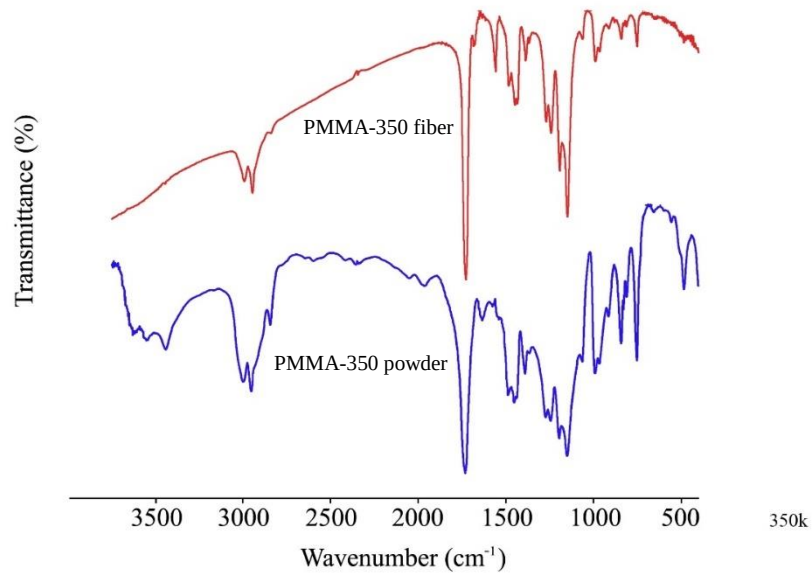


รูปที่ 27 กราฟเปรียบเทียบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 0.35 %  
ระหว่าง ■ non alignment และ ■ alignment

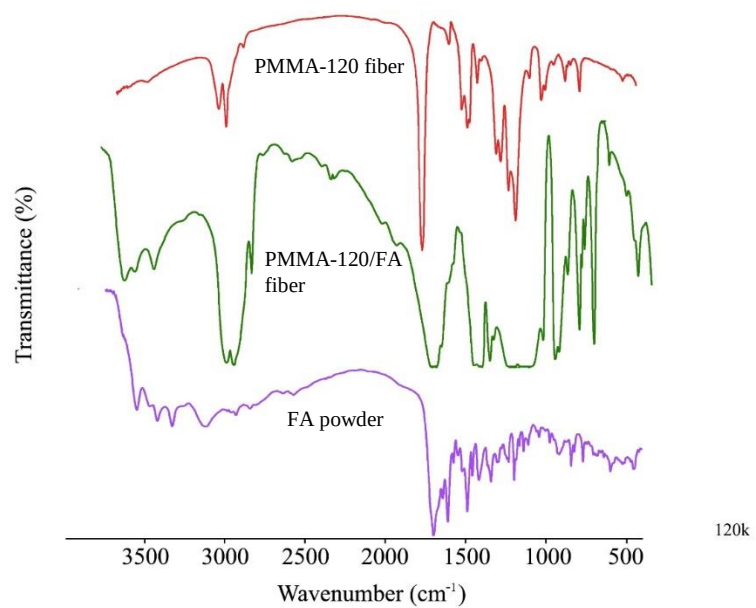
3. ศึกษาหมู่โครงสร้างของผงพอลิเมทิลเมทาไครเลต เส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลต และ เส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่ผสมกับกรดโฟลิก ด้วยเครื่อง FTIR



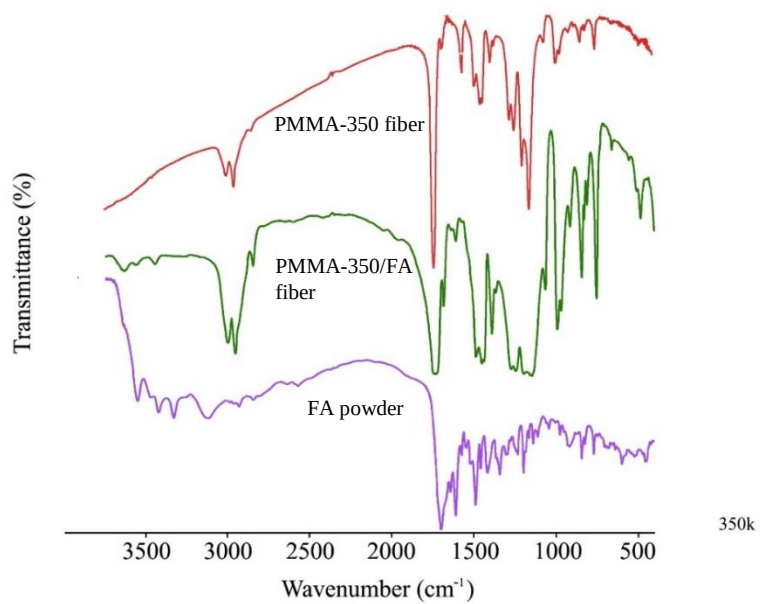
รูปที่ 28 กราฟเปรียบเทียบระหว่างผง PMMA-120 และเส้นใย PMMA-120



รูปที่ 29 กราฟเปรียบเทียบระหว่างผง PMMA-350 และเส้นใย PMMA-350

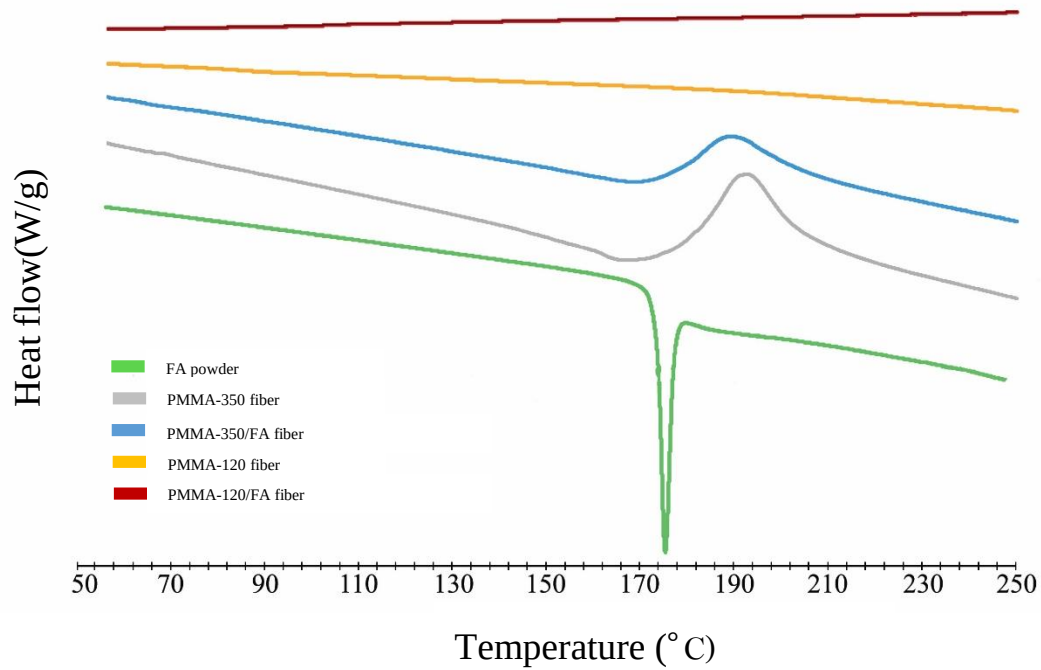


รูปที่ 30 กราฟเปรียบเทียบระหว่างผงกรดโพลีกลี ไลน์ PMMA-120/FA และไลน์ PMMA-120



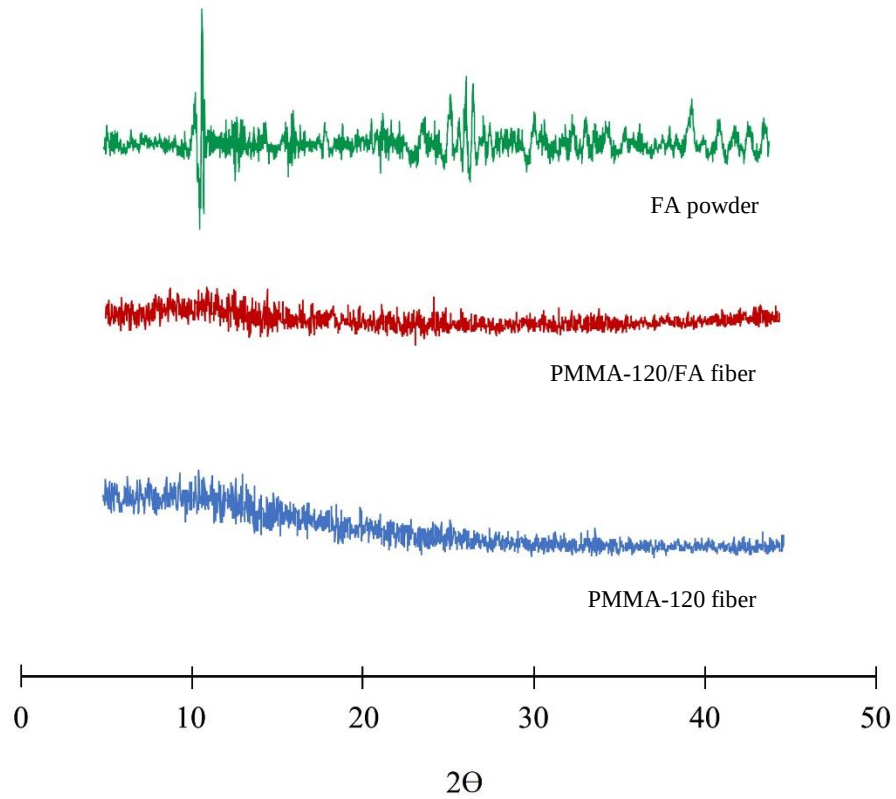
รูปที่ 31 กราฟเปรียบเทียบระหว่างผงกรดโพลีกลี ไลน์ PMMA-350/FA และไลน์ PMMA-350

4. ผลการทดสอบการเปลี่ยนแปลงทางความร้อนของสารตัวอย่างโดยใช้เครื่อง Differential scanning calorimetry (DSC) เพื่อทดสอบคุณสมบัติความเข้ากัน (miscible blend) ของพอลิเมทิลเมทาไครเลตและกรดโฟลิก

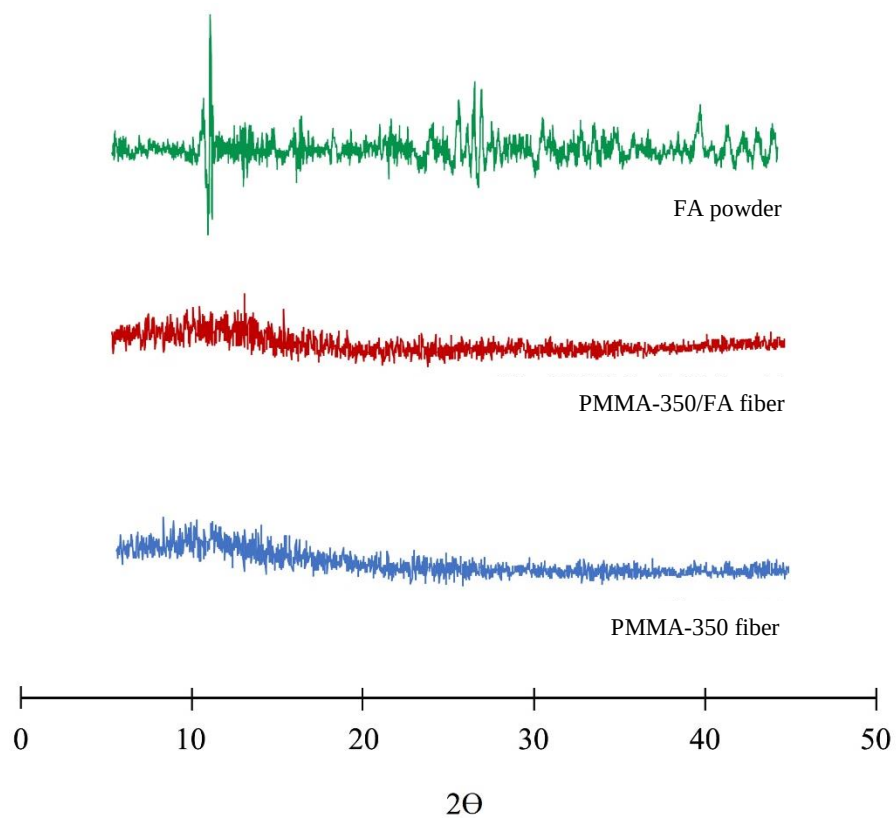


รูปที่ 32 กราฟระหว่างอุณหภูมิและอัตราความร้อน แสดงการเปรียบเทียบระหว่างผงกรดโฟลิก เส้นใย PMMA-120 เส้นใย PMMA-350 เส้นใย PMMA-120/FA และเส้นใย PMMA-350/FA

5. ผลการทดสอบรูปแบบโครงสร้างผลึกของเส้นใยด้วยเครื่อง Powder X-Ray Diffraction (PXRD)



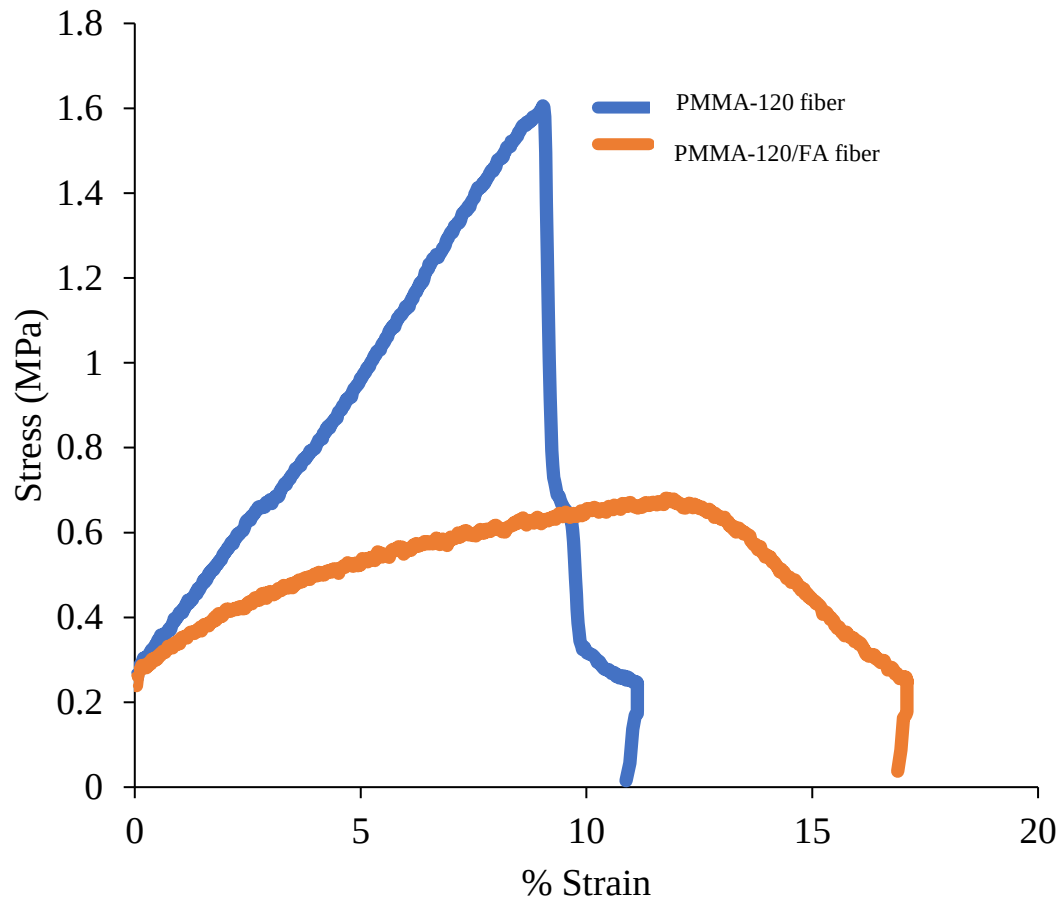
รูปที่ 33 กราฟแสดงการเปรียบเทียบรูปแบบโครงสร้างผลึกระหว่างผงกรดฟอลิก เส้นใย PMMA-120/FA และเส้นใย PMMA-120



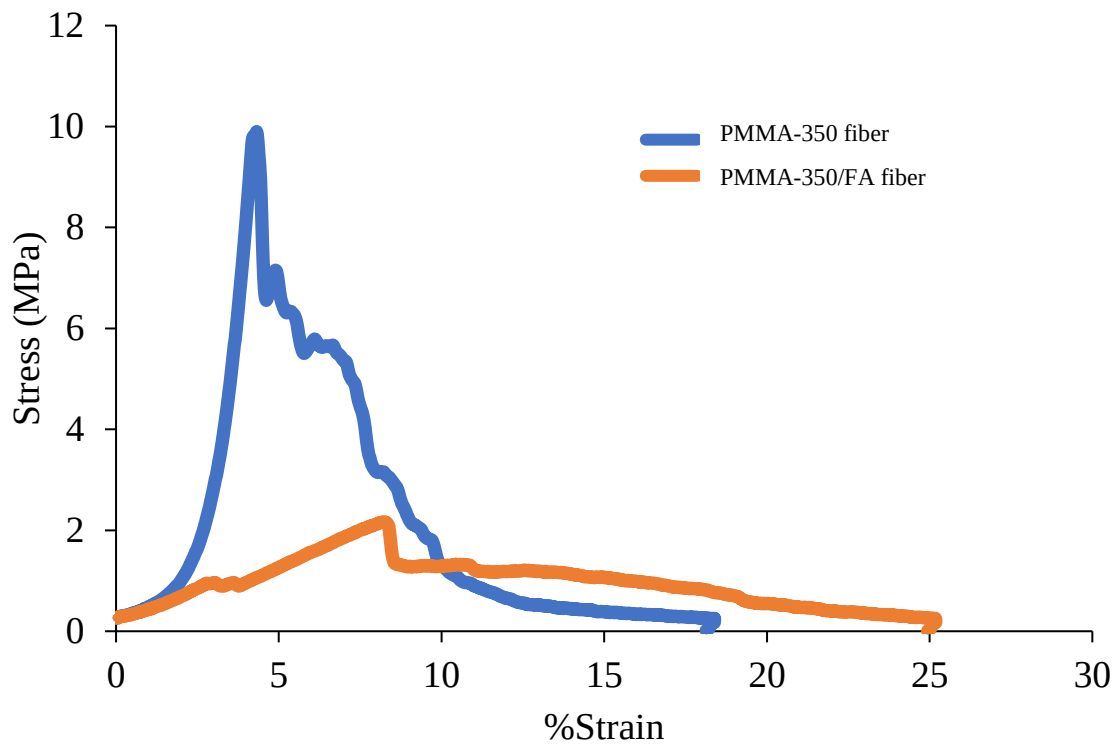
รูปที่ 34 กราฟแสดงการเปรียบเทียบรูปแบบโครงสร้างผลึกระหว่างผงกรดฟอลิก เส้นใย PMMA-350/FA และ เส้นใย PMMA-350



6. ทดสอบคุณสมบัติเชิงกลด้วยเครื่อง Texture analyzer เพื่อหาค่าความเครียด ความเค้น และมอดูลัสของยัง (young's modulus) ของแผ่นเส้นใย



รูปที่ 35 กราฟแสดงความเค้นความเครียดของเส้นใย PMMA-120 เทียบ PMMA-120/FA

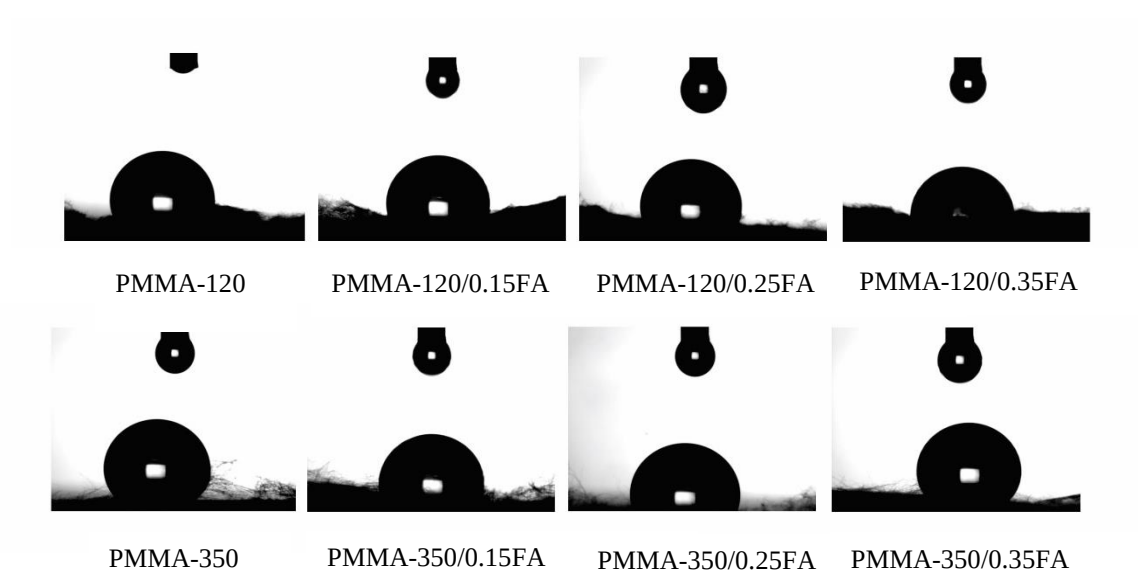


รูปที่ 36 กราฟแสดงความเค้นความเครียดของเส้นใย PMMA-350 เทียบ PMMA-350/FA

ตารางที่ 13 แสดงถึงค่าความเค้นความเครียด และค่ายังโมดูลัสของเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตเปรียบเทียบกับเส้นใยที่ผสมกรดฟอสฟอริก

| แผ่นเส้นใย  | Tensile Stress (MPa) | % Maximum Strain | Young's modulus (MPa) |
|-------------|----------------------|------------------|-----------------------|
| PMMA-120    | 1.52 ± 0.14          | 8.53 ± 3.29      | 17.69 ± 0.14          |
| PMMA-350    | 9.33 ± 0.55          | 18.23 ± 0.12     | 217.21 ± 16.23        |
| PMMA-120/FA | 0.66 ± 0.1           | 16.62 ± 0.34     | 5.10 ± 0.63           |
| PMMA-350/FA | 2.09 ± 0.05          | 25.05 ± 0.12     | 26.17 ± 0.67          |

7. ผลการทดสอบความชอบน้ำของเส้นใย ด้วยเครื่อง Drop shape analyzer



รูปที่ 37 ภาพถ่ายหยดน้ำที่อยู่บนเส้นใย

ตารางที่ 14 แสดงมุมของน้ำที่ทำกับแผ่นเส้นใย

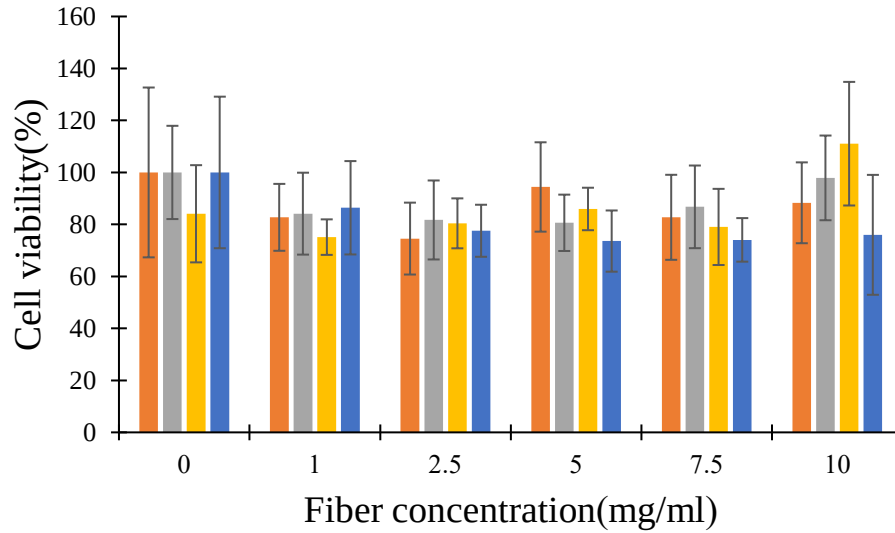
| Fiber           | Contact angle |
|-----------------|---------------|
| PMMA-120        | 101.67        |
| PMMA-120/0.15FA | 99.39         |
| PMMA-120/0.25FA | 105.07        |
| PMMA-120/0.35FA | 95.37         |
| PMMA-350        | 117.61        |
| PMMA-350/0.15FA | 100.94        |
| PMMA-350/0.25FA | 99.35         |
| PMMA-350/0.35FA | 115.08        |

8. วิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญกรดโฟลิกที่อยู่ในแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินนิงเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลต ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer คำนวณโดยหา % content

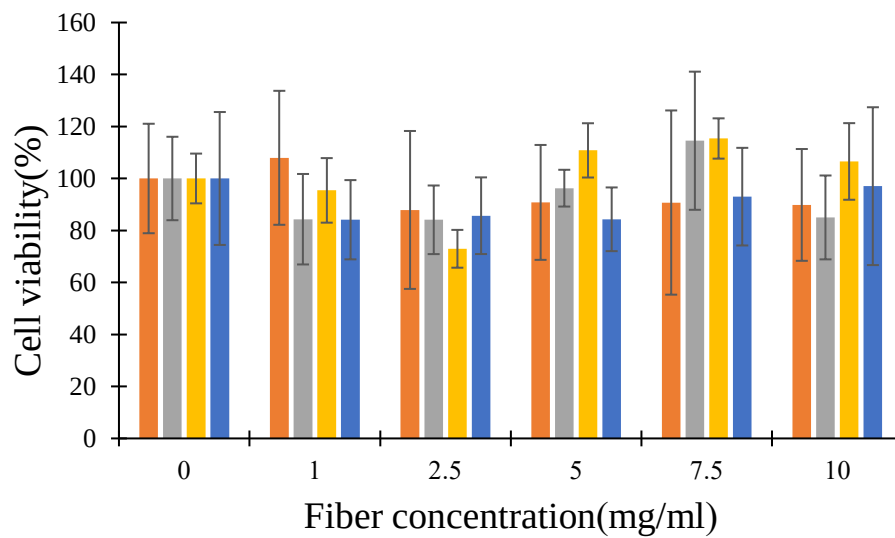
ตารางที่ 15 ปริมาณสารสำคัญกรดโฟลิกที่สามารถบรรจุลงในแผ่นเส้นใยอิเล็กโทรสปินนิงเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่บรรจุกรดโฟลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ

| Fiber           | Content (%)  |
|-----------------|--------------|
| PMMA-120/0.25FA | 50.03 ± 5.59 |
| PMMA-120/0.35FA | 45.99 ± 4.39 |
| PMMA-350/0.25FA | 47.89 ± 9.79 |
| PMMA-350/0.35FA | 39.53 ± 1.90 |

9. ผลการทดสอบความเป็นพิษโดยอ้อมของสารตัวอย่างต่อชวาน์เซลล์ด้วยวิธี MTT assay



รูปที่ 38 กราฟแสดงร้อยละการมีชีวิตของชวาน์เซลล์ในเส้นใย PMMA-120 fiber PMMA-120/0.15FA fiber PMMA-120/0.25FA fiber และ PMMA-120/0.15FA fiber



รูปที่ 39 กราฟแสดงร้อยละการมีชีวิตของชวาน์เซลล์ในเส้นใย PMMA-350 fiber PMMA-350/0.15FA fiber PMMA-350/0.25FA fiber และ PMMA-350/0.15FA fiber

## บทที่ 5

### สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาความเป็นไปได้เบื้องต้นของชนิดสารละลายพอลิเมอร์และความเข้มข้นของสารละลายพอลิเมอร์ที่เหมาะสมก่อนเตรียมเป็นแผ่นเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่ผสมกับกรดโฟลิก

#### 1.1 หาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ PMMA-120 ในสารละลาย DMF

คณะผู้วิจัยได้ผลิตเส้นใยด้วยวิธีอิเล็กโตรสปินนิงทั้งหมด 3 ความเข้มข้นของ PMMA-120/DMF คือ 20 % 23 % และ 25 % w/w พบว่าเส้นใยมีลักษณะเป็นสีขาวฟูเมื่อมองด้วยตาเปล่า และเมื่อมองจากภาพถ่าย Scanning Electron Microscope (SEM) เส้นใยที่ความเข้มข้นที่ 20 % w/w พบบิสต์มาก เมื่อเทียบกับ PMMA ที่ความเข้มข้น 23 % และ 25 % w/w และเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยจาก 3 ความเข้มข้นมีค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าคลาดเคลื่อน ของ 20% 23 % และ 25 % w/w ดังนี้  $458.50 \pm 238.63$   $759.33 \pm 88.13$  และ  $1119.68 \pm 413.55$  นาโนเมตร ตามลำดับ และเมื่อนำค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางมาเปรียบเทียบทางสถิติ One-way ANOVA ได้ค่า P value = 0.07 จึงสรุปได้ว่าเมื่อความเข้มข้นของพอลิเมอร์มากขึ้นจะทำให้เส้นผ่านศูนย์กลางมากขึ้นแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ และจากค่าคลาดเคลื่อน พบว่าที่ความเข้มข้นที่ 23 % w/w จะมีการกระจายขนาดของเส้นใยสม่ำเสมอมากที่สุด ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงเลือกความเข้มข้นที่ 23 % w/w มาผสมกับกรดโฟลิก

#### 1.2 หาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ PMMA-350 ในสารละลาย DMF

คณะผู้วิจัยได้ผลิตเส้นใย PMMA-350/DMF ด้วยวิธีอิเล็กโตรสปินนิงทั้งหมด 3 ความเข้มข้น 13 % 14 % และ 15 % w/w พบว่าเส้นใยมีลักษณะเป็นสีขาวเห็นเป็นชั้นชัดเจนเมื่อมองด้วยตาเปล่า และเมื่อมองจากภาพถ่าย Scanning Electron Microscope (SEM) พบว่าเส้นใย 3 ความเข้มข้นไม่พบบิสต์ และเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยจาก 3 ความเข้มข้นมีค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าคลาดเคลื่อนของ 13 % 14 % และ 15 % w/w ดังนี้  $1509.22 \pm 229.95$   $2172.31 \pm 386.52$  และ  $2355.17 \pm 333.41$  นาโนเมตร ตามลำดับ และเมื่อนำค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางมา

เปรียบเทียบทางสถิติ One-way ANOVA ได้ค่า P value = 0.07 จึงสรุปได้ว่า เมื่อความเข้มข้นของพอลิเมอร์มากขึ้นจะทำให้เส้นผ่านศูนย์กลางมากขึ้นเช่นเดียวกันกับ PMMA-120 และจากค่าคลาดเคลื่อน พบว่าที่ความเข้มข้นที่ 13% w/w จะมีการกระจายขนาดของเส้นใยสม่ำเสมอมากที่สุด ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงเลือกความเข้มข้นที่ 13 % w/w มาผสมกับกรดฟอลิก

## 2. ศึกษาคุณสมบัติของแผ่นเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่ผสมกรดฟอลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ

### 2.1 ลักษณะทางกายภาพของแผ่นเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่ผสมกับกรดฟอลิกที่ความเข้มข้นต่างๆของ PMMA-120 และ PMMA-350

จากตารางที่ 10 แสดงภาพถ่ายทางกายภาพของแผ่นเส้นใย PMMA/Folic ทั้ง 2 มวลโมเลกุลที่ความเข้มข้น 0 % 0.15 % 0.25 % และ 0.35 % w/w พบว่าสีของแผ่นเส้นใยจะเข้มข้นเมื่อความเข้มข้นของกรดฟอลิกในแผ่นเส้นใยเพิ่มขึ้น ถ้าที่ความเข้มข้นของกรดฟอลิกน้อย สีของแผ่นเส้นใยจะเป็นจะเป็นสีเหลืองจางๆ และค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีเหลืองขึ้นเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น เนื่องจากสีของสารฟอลิกเป็นสีเหลืองและสีไม่เกิดการสลายตัวเมื่อผ่านกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิง และเมื่อเปรียบเทียบสีของแผ่นเส้นใย PMMA/Folic ทั้ง 2 มวลโมเลกุล ที่ความเข้มข้นของกรดฟอลิกเท่ากันพบว่า PMMA-350 มีสีเหลืองเข้มกว่า PMMA-120

### 2.2 ศึกษาพื้นฐานวิทยา ขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของเส้นใยด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscope (SEM) กำลังขยาย 5,000 เท่า และเปรียบเทียบระหว่าง non alignment และ alignment

จากภาพถ่าย SEM กำลังขยาย 5,000 เท่า ของแผ่นเส้นใย PMMA-120/FA ที่มีความเข้มข้น 0 % 0.15 % 0.25 % และ 0.35 % w/w มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยดังนี้คือ  $767 \pm 209$   $893 \pm 212$   $793 \pm 181$  และ  $746 \pm 179$  นาโนเมตร ตามลำดับ และ จากภาพถ่าย SEM ของแผ่นเส้นใย PMMA-0/FA ที่มีความเข้มข้น 0 % 0.15 % 0.25 % และ 0.35 % มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยดังนี้  $1504 \pm 229$   $1464 \pm 213$   $1366 \pm 205$  และ  $1457 \pm 211$  นาโนเมตร ตามลำดับ และนำค่าเฉลี่ย

เส้นผ่านศูนย์กลางกลางของ PMMA-120/FA และ PMMA-350/FA มาเปรียบเทียบทางสถิติ One-way ANOVA ได้ค่า P value = 0.80 และ 0.88 ตามลำดับ จึงสรุปได้ว่าการเพิ่มปริมาณกรดโฟลิกที่ความเข้มข้นดังกล่าวมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามการเพิ่มความเข้มข้นของกรดโฟลิกทำให้ละลายในตัวทำละลาย DMF ยากขึ้น และ ทำให้ลักษณะของเส้นใยพบบิตส์มากขึ้น

### 3. ศึกษาหมู่โครงสร้างของผง PMMA เส้นใย PMMA และ PMMA/Folic ด้วยเครื่อง Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

จากรูปที่ 28 แสดงกราฟการเปรียบเทียบโครงสร้างของผง PMMA-120 และเส้น PMMA-120 พบว่า สเปกตรัมของผง PMMA-120 มี C=O stretching ที่เลขคลื่น  $1731\text{ cm}^{-1}$  และ C-H stretching ที่เลขคลื่น  $2998\text{ cm}^{-1}$  เส้นใย PMMA-120 มี C=O stretching ที่เลขคลื่น  $1731\text{ cm}^{-1}$  และ C-H stretching ที่เลขคลื่น  $2996\text{ cm}^{-1}$  ซึ่งมีเลขคลื่นที่เหมือนกัน ฉะนั้นจึงสรุปได้ว่า โครงสร้างของผง PMMA-120 ไม่ได้ถูกทำลายเมื่อผ่านกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิง และจากรูปที่ 30 แสดงกราฟเปรียบเทียบโครงสร้างของกรดโฟลิก เส้นใย PMMA-120 และ PMMA-120/FA พบว่า PMMA-120/FA มี C=O stretching ของหมู่ amide ที่เลขคลื่น  $1716\text{ cm}^{-1}$  และพบ N-H stretching ของหมู่ amide ที่เลขคลื่น  $3439\text{ cm}^{-1}$  เพิ่มขึ้นมาจาก PMMA-120 ซึ่งใกล้เคียงกับสเปกตรัมของหมู่ฟังก์ชันของหมู่ amide ในโครงสร้างของกรดโฟลิก ที่พบ C=O stretching ที่เลขคลื่น  $1694\text{ cm}^{-1}$  และพบ N-H stretching ที่เลขคลื่น  $3416\text{ cm}^{-1}$  ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเส้นใยที่ผ่านกระบวนการอิเล็กโตรสปินนิงที่ผสมกรดโฟลิกยังคงมีกรดโฟลิกเป็นส่วนประกอบ และ PMMA-350 มีแนวโน้มไปในทางเดียวกันกับ PMMA-120 ดังรูปที่ 29 และ 31



4. ผลการทดสอบการเปลี่ยนแปลงทางความร้อนของสารตัวอย่างโดยใช้เครื่อง Differential scanning calorimetry (DSC) เพื่อทดสอบคุณสมบัติความเข้ากัน (miscible blend) ของพอลิเมทิลเมทาไครเลตและกรดโฟลิก

จากเทอร์โมแกรมรูปที่ 32 จะเห็นได้ว่าเมื่อเปรียบเทียบเส้นใย PMMA-120 และ PMMA-350 พบว่าเส้นกราฟของเส้นใย PMMA-120 มีลักษณะเป็นเส้นตรง ส่วน เส้นใย PMMA-350 พบพีกในช่วงอุณหภูมิ 180 – 200 องศาเซลเซียส แสดงว่าเส้นใย PMMA-350 มีโครงสร้างโมเลกุลที่เป็นระเบียบมากกว่าเส้นใย PMMA-120 และเส้นกราฟของกรดโฟลิกแสดงให้เห็นถึงพีกที่อุณหภูมิประมาณ 170-180 องศาเซลเซียส และเมื่อเทียบกับเส้นใย PMMA/FA จะเห็นได้ว่าไม่พบพีกในเส้นใย PMMA-120/FA เนื่องจากกรดโฟลิกละลายในตัวทำละลาย DMF ทำให้เปลี่ยนรูปเป็นอสัณฐาน (amorphous form) เมื่อผ่านกระบวนการอิเล็กโทรสปินนิง ส่วนเส้นใย PMMA-350 มีแนวโน้มเช่นเดียวกันกับ PMMA-120

5. ผลการทดสอบรูปแบบโครงสร้างผลึกของเส้นใยด้วยเครื่อง Powder X-Ray Diffraction (PXRD)

จากรูปที่ 33 แสดงกราฟ PXRD ของกรดโฟลิก เส้นใย PMMA-120 และ เส้นใย PMMA-120/FA พบว่า เส้นกราฟของกรดโฟลิกมีลักษณะเป็นแถบกว้าง และมี diffraction peak ที่มุม  $2\theta$  เท่ากับ 10 และ 26 องศา แต่เส้นกราฟของเส้นใย PMMA-120 และ เส้นใย PMMA-120/FA มีลักษณะเป็นแถบกว้างและไม่พบ diffraction peak เนื่องจากเส้นใยมีรูปเป็นอสัณฐาน (amorphous form) ส่วนเส้นใย PMMA-350 มีแนวโน้มเช่นเดียวกันกับ PMMA-120

6. ทดสอบคุณสมบัติเชิงกลด้วยเครื่อง texture analyzer ของแผ่นเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตและเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่ผสมกับกรดฟอสฟอริก มวลโมเลกุล 120,000 และ 350,000

จากรูปที่ 35 แสดงกราฟระหว่างความเค้นและความเครียดของเส้นใย PMMA-120 และ PMMA-120/FA พบว่าเส้นใย PMMA-120 มีค่ามอดูลัสของยัง  $17.69 \pm 0.14$  MPa และ PMMA-120/FA มีค่ามอดูลัสของยัง  $5.1 \pm 0.63$  MPa และจากรูปที่ 36 แสดงกราฟระหว่างความเค้นและความเครียดของเส้นใย PMMA-350 และ PMMA-350/FA พบว่า PMMA-350 มีค่ามอดูลัสของยัง  $217.21 \pm 16.23$  MPa และ PMMA-350/FA มีค่ามอดูลัสของยัง  $26.17 \pm 0.67$  MPa แสดงว่ากรดฟอสฟอริกจะทำให้เส้นใยมีความแข็งแรงน้อยลง และเมื่อเปรียบเทียบค่ามอดูลัสของยังระหว่าง PMMA-120 และ PMMA-350 จะเห็นได้ว่า PMMA-350 มีความแข็งแรงมากกว่า PMMA-120 ประมาณ 13 เท่า

7. ผลการทดสอบความชอบน้ำด้วยเครื่อง Drop shape analyzer เส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตและเส้นใยพอลิเมทิลเมทาไครเลตที่ผสมกับกรดฟอสฟอริก มวลโมเลกุล 120,000 และ 350,000

จากรูปที่ 31 และตารางที่ 14 ที่แสดงรูปหยดน้ำบนแผ่นเส้นใย PMMA กับ PMMA/FA และค่า contact angle โดยความเข้มข้นทั้งหมดมีค่า contact angle มากกว่า 90 องศา แสดงว่าเส้นใยเปียกน้ำยาก (Incomplete wetting) (51) ซึ่งอาจทำให้เซลล์ยึดเกาะกับเส้นใยได้ไม่ดี

8. วิเคราะห์ปริมาณกรดฟอสฟอริกที่สามารถผสมลงในแผ่นเส้นใย PMMA ที่ความเข้มข้นต่างๆ ด้วยเครื่อง UV-Visible spectrophotometer

จากผลของการวิเคราะห์หา % content ซึ่งคำนวณจาก linear regression equation ของ standard curve ของกราฟกรดฟอสฟอริก ( $Y = 0.0521x + 0.0002$ ,  $R^2 = 0.9992$ ) โดย Y คือความยาวคลื่น และ X คือความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริก ภายในเวลา 336 ชั่วโมง ดังตารางที่ 15 แสดงปริมาณร้อยละกรดฟอสฟอริกที่ปลดปล่อยจากแผ่นเส้นใย PMMA ที่ความเข้มข้นของกรดฟอสฟอริก 0.25 % และ 0.35 % w/w ในเส้นใย PMMA-120 และ PMMA-350 พบว่า มี % content เฉลี่ย ของ PMMA-120 ที่ความเข้มข้น 0.25 % และ 0.35 % w/w ได้แก่ 50.03 % และ 46 % ตามลำดับ และมี % content เฉลี่ย ของ

PMMA-350 ที่ความเข้มข้น 0.25 % และ 0.35 % w/w ได้แก่ 48 % และ 40 % ตามลำดับ โดยเมื่อเปรียบเทียบ % content ของ PMMA-120 และ PMMA-350 ด้วยสถิติ One way ANOVA พบว่าเส้นใยของ PMMA-120 จะปลดปล่อยกรดโฟลิกได้เร็วกว่า PMMA-350 อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P value = 0.25)

#### 9. ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารตัวอย่างต่อชวาน์เซลล์ด้วยวิธี MTT assay

จากผลการทดสอบความเป็นพิษของเส้นใย PMMA-120/FA และ PMMA-350/FA ดังรูปที่ 38 และ 39 โดยเจือจางเส้นใยที่ละลายใน DMEM (-) เป็น 5 ความเข้มข้นได้แก่ 1 2.5 5 7.5 10 mg/ml และเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม พบว่าส่วนมาก มีร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์มากกว่า 80 % และเมื่อนำร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์ ไปเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมโดยสถิติ one way ANOVA ได้ค่า P value มากกว่า 0.05 ทั้งหมด ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเส้นใยที่ผสมกรดโฟลิกไม่เป็นพิษต่อเซลล์ เพราะค่า P value มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

## เอกสารอ้างอิง

1. Daly W, Yao L, Zeugolis D, Windebank A, Pandit A. A biomaterials approach to peripheral nerve regeneration: bridging the peripheral nerve gap and enhancing functional recovery. *Journal of The Royal Society Interface*. 2012;9(67):202-21.
2. Kretschmer T, Antoniadis G, Braun V, Rath SA, Richter HP. Evaluation of iatrogenic lesions in 722 surgically treated cases of peripheral nerve trauma. *Journal of neurosurgery*. 2001 Jun;94(6):905-12.
3. Chiono V, Tonda-Turo C. Trends in the design of nerve guidance channels in peripheral nerve tissue engineering. *Progress in neurobiology*. 2015;131:87-104.
4. พอ.นพ.ศุภกิจ สงวนดีกุล. การรักษาบาดเจ็บที่เส้นประสาท (Nerve repair) [Internet]. 2018 [cited 23 March 2018]. Available from: <http://ebrain1.com/hbnerve.html>
5. รศ.นพ. คณิศร์ สนั่นพานิช. การบาดเจ็บของเส้นประสาทส่วนปลาย (peripheral nerve injury). [Internet]. 2018 [cited 23 March 2018]. Available from: [www.med.cmu.ac.th/dept/.../Peripheral%20nerve%20injury.pdf](http://www.med.cmu.ac.th/dept/.../Peripheral%20nerve%20injury.pdf)
6. Xia H, Chen Q, Fang Y, Liu D, Zhong D, Wu H et al. Directed neurite growth of rat dorsal root ganglion neurons and increased colocalization with Schwann cells on aligned poly (methyl methacrylate) electrospun nanofibers. 2018;1565:18-27.
7. Ali U, Karim KJBA, Buang NA. A review of the properties and applications of poly (methyl methacrylate) (PMMA). *Polymer Reviews*. 2015;55(4):678-705.
8. Xia H, Sun X, Liu D, Zhou Y, Zhong D. Oriented growth of rat Schwann cells on aligned electrospun poly (methyl methacrylate) nanofibers. 2018;369:88-95.

9. Harma A, Zorludemir S, Sahin M. Effects of Intraperitoneally Administered Folic Acid on the Healing of Repaired Tibial Nerves in Rats. *Journal of Reconstructive Microsurgery*. 2014;31(03):191-197.
10. The United States Pharmacopoeia 35; The National Formulary 30. Rockville, Md.: United States Pharmacopeial Convention; 2012.
11. เตรียมโพธิ์ ว. นานาเทคโนโลยีคืออะไร – ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ (NANOTEC) [Internet]. [cited 26 February 2018]. Available from:  
<https://www2.nanotec.or.th/th/?p=1137>
12. labuayai s. สารน่ารู้ : เส้นใยนาโน (nanofiber) ตอนที่ 1 [Internet]. 2018 [cited 26 February 2018]. Available from:  
<http://coolpeetunk.blogspot.com/2010/10/nanofiber.html>
13. Huang Z, Zhang Y, Kotaki M, Ramakrishna S. A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology* [Internet]. 2003 [cited 26 February 2018];63(15):2223-2253. Available
14. ภก.ณัฐธัญ เจริญศรีวิไลวัฒน์, ภก.วศ โอบณะโสภิต. Applications of electrospinning polymer nanofibers วารสารไทยเภสัชนิพนธ์; 4 [26 กุมภาพันธ์ 2561]. 2: Available from: <https://www.tci-thaijo.org/index.php/TBPS/article/view/33077>.
15. Ramalingam M, Ramakrishna S. Nanofiber composites for biomedical applications. 1st ed. Woodhead Publishing; 2018.
16. นานาเทคโนโลยีเชิงชีวภาพ และนาโนเทคโนโลยีทางการแพทย์. [Internet]. 2018. [cited 26 February 2018]. Available from:  
<http://kanchanapisek.or.th/kp6/sub/book/book.php?book=32&chap=8&page=t32-8-infodetail05.html>
17. Kehoe S, Zhang X, Boyd D. FDA approved guidance conduits and wraps for peripheral nerve injury: a review of materials and efficacy. *Injury*.

2012;43(5):553-72.

18. Mehta D, Guvva S, Patil M. Future impact of nanotechnology on medicine and dentistry. *Journal of Indian Society of Periodontology* [Internet]. 2008 [cited 26 February 2018];12(2):34. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2813556/>
19. National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering. (2018). Tissue Engineering and Regenerative Medicine. [online] Available at: <https://www.nibib.nih.gov/science-education/science-topics/tissue-engineering-and-regenerative-medicine> [Accessed 26 Feb. 2018].
20. Almodovar, J. (2018). *Electrospun biomaterials and related technologies*. Cham: Springer International Publishing: Springer Nature.
21. Nasreen, S., Sundarrajan, S., Nizar, S., Balamurugan, R. and Ramakrishna, S. (2013). Advancement in Electrospun Nanofibrous Membranes Modification and Their Application in Water Treatment. *Membranes*, [online] 3(4), pp.266-284. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4021948/> [Accessed 26 Feb. 2018].
22. Khanlou HM, Ang BC, Talebian S, Barzani MM, Silakhori M, Fauzi H. Multi-response analysis in the processing of poly (methyl methacrylate) nano-fibres membrane by electrospinning based on response surface methodology: Fibre diameter and bead formation. *Measurement*. 2015; 65:193-206.
23. Haider A, Haider S, Kang I. A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology. 2018.
24. Fourier Transform InfraRed Spectrometer. *Environmental Engineering*. [Internet]. *Env.eng.chula.ac.th*. 2018 [cited 26 February 2018]. Available from: <http://www.env.eng.chula.ac.th/?q=content/fourier-transform-infrared-spectrometer>

25. นาโนเทคโนโลยีเชิงชีวภาพ และนาโนเทคโนโลยีทางการแพทย์ (biological and medical nanotechnology) [Internet]. Kanchanapisek.or.th. 2018 [cited 26 February 2018]. Available from: <http://kanchanapisek.or.th/kp6/sub/book/book.php?book=32&chap=8&page=t32-8-infodetail05.html>
26. UV/VIS Spectrophotometer. ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ (NANOTEC). [Internet]. [cited 26 February 2018]. Available from: [https://www2.nanotec.or.th/th/?page\\_id=575](https://www2.nanotec.or.th/th/?page_id=575)
27. เทคโนโลยีการสร้างระดับนาโน [Internet]. il.mahidol.ac.th. 2018 [cited 26 February 2018]. Available from: <http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/nano/Page/Unit4-5.html>
28. บทที่3. [Internet]. สำนักหอสมุดกำแพงแสน. [cited 30 March 2018]. Available from: [www.lib.kps.ku.ac.th/SpecialProject/Food\\_Science/2547/Bs/ChontichaWi/chapter3.pdf](http://www.lib.kps.ku.ac.th/SpecialProject/Food_Science/2547/Bs/ChontichaWi/chapter3.pdf)
29. Jiang D, Hu X, Lin Z, De'sousa A, Xiao J, Jin W et al. Mechanical properties and crystallization behaviors of oriented electrospun nanofibers of zein/poly( $\epsilon$ -caprolactone) composites. *Polymer Composites*. 2016;39(6):2151-2159.
30. Charernsriwilaiwat N, Rojanarata T, Ngawhirunpat T, Opanasopit P. Aligned Electrospun Polyvinyl Pyrrolidone/Poly  $\epsilon$ -Caprolactone Blend Nanofiber Mats for Tissue Engineering. *International Journal of Nanoscience*. 2016;15(01n02):1650005.
31. Zuhair, J , Abdul Amer, J.K.A.; Sura Fahim, A. "Chitosan/PMMA bioblend for drugs release applications", *International Journal of Engineering and Technology* 2014, 4(5), 318–324.
32. Zuber, M , Tabasum, S.; Jamil, T.; Shahid, M.; Hussain, R.; Feras, K.S.; Bhatti, K.P. "Biocompatibility and microscopic evaluation of polyurethane–poly

- (methyl methacrylate)–titanium dioxide-based composites for dental applications”, *Journal of Applied Polymer Science* 2014, 131(3), 1–9.
33. Nien, Y.H, Lin, S.W, Hsu, Y.N. “Preparation and characterization of acrylic bone cement with high drug release”, *Materials Science & Engineering C* 2013, 33(2), 974–978.
  34. Shi, M, Kretlow, J.D, Spicer, P.P, Tabata, Y, Demian, N Wong, M.E, Kasper, F.K, Mikos, A.G. “Antibiotic-releasing porous polymethylmethacrylate /gelatin /antibiotic constructs for craniofacial tissue engineering”, *Journal of Controlled Release* 2011, 152(1), 196–205
  35. Webb J, Spencer R. The role of polymethylmethacrylate bone cement in modern orthopaedic surgery. *Bone & Joint Journal*. 2007;89(7):851-7.
  36. Xia H, Sun X, Liu D, Zhou Y, Zhong D. Oriented growth of rat Schwann cells on aligned electrospun poly (methyl methacrylate) nanofibers. *Journal of the neurological sciences*. 2016; 369:88-95.
  37. Mohammad Khanlou H, Chin Ang B, Talebian S, Muhammad Afifi A, Andriyana A. Electrospinning of polymethyl methacrylate nanofibers: optimization of processing parameters using the Taguchi design of experiments. *Textile Research Journal*. 2015;85(4):356-68.
  38. Wang H, Liu Q, Yang Q, Li Y, Wang W, Sun L, et al. Electrospun poly (methyl methacrylate) nanofibers and microparticles. *Journal of materials science*. 2010;45(4):1032.
  39. Piperno S, Lozzi L, Rastelli R, Passacantando M, Santucci S. PMMA nanofibers production by electrospinning. *Applied Surface Science*. 2006;252(15):5583-6.
  40. Balen R, da Costa WV, de Lara Andrade J, Piai JF, Muniz EC, Companhoni MV, et al. Structural, thermal, optical properties and cytotoxicity of PMMA/ZnO fibers and films: Potential application in tissue engineering. *Applied Surface*



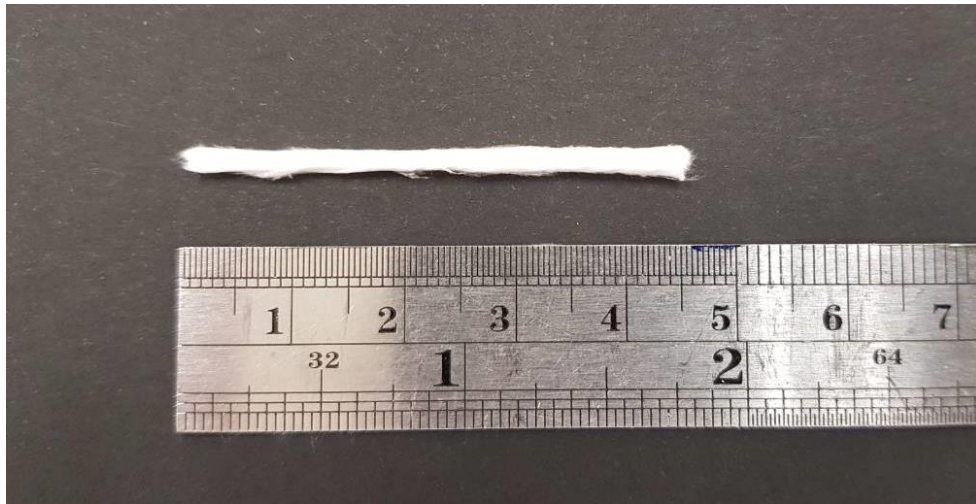
Science. 2016; 385:257-67.

41. Acid G, Folvite B. Folvite (Folic Acid): Side Effects, Interactions, Warning, Dosage & Uses [Internet]. RxList. 2018 [cited 14 March 2018]. Available from: <https://www.rxlist.com/folvite-drug.html>
42. Folic Acid: Uses, Benefits & Side Effects - Drugs.com [Internet]. Drugs.com. 2018 [cited 14 March 2018]. Available from: [https://www.drugs.com/folic\\_acid.html](https://www.drugs.com/folic_acid.html)
43. Llamas MC, Miguélez CL. Folic acid: primary prevention of neural tube defects. Literature review. Archivos espanoles de urologia. 2016;69(2):73-85.
44. Akchiche N, Bossenmeyer-Pourie C, Pourie G, Koziel V, Nédélec E, Guéant JL, et al. Differentiation and neural integration of hippocampal neuronal progenitors: signaling pathways sequentially involved. Hippocampus. 2010;20(8):949-61.
45. Balashova O, Visina O, Borodinsky L. Folate action in nervous system development and disease. Developmental Neurobiology. 2018.
46. Xiao J, Zhu Y, Huddleston S, Li P, Xiao B, Farha O et al. Copper Metal–Organic Framework Nanoparticles Stabilized with Folic Acid Improve Wound Healing in Diabetes. ACS Nano. 2018;12(2):1023-1032.
47. Kim G, Chen Y, Kang W, Guo J, Payne R, Li H et al. The critical chemical and mechanical regulation of folic acid on neural engineering. Biomaterials. 2018;178:504-516.
48. Folic Acid [Internet]. Webbook.nist.gov. 2018 [cited 14 March 2018]. Available from: <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C59303&Mask=80>
49. Folic acid [Internet]. Pubchem.ncbi.nlm.nih.gov. 2018 [cited 14 March 2018]. Available from: [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/folic\\_acid#section=Top](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/folic_acid#section=Top)

50. Kshirsagar S, Bhalekar S, Gopale D, Ambavade S. Development and Validation of New UV- Spectroscopic Method for Water Soluble Folic Acid. International Journal of Chemical Concepts. 2015;3(4):364-70.
51. Giridhar G, Manepalli R, Apparao G. Contact Angle Measurement Techniques for Nanomaterials. Thermal and Rheological Measurement Techniques for Nanomaterials Characterization. 2017;173-195.

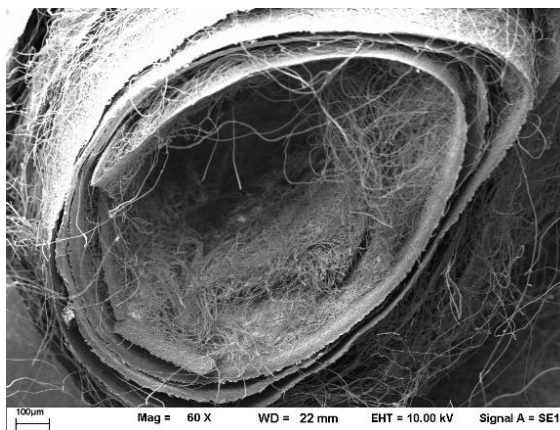
## ภาคผนวก

1. ภาพถ่ายลักษณะทางกายภาพเมื่อมองด้วยตาเปล่า

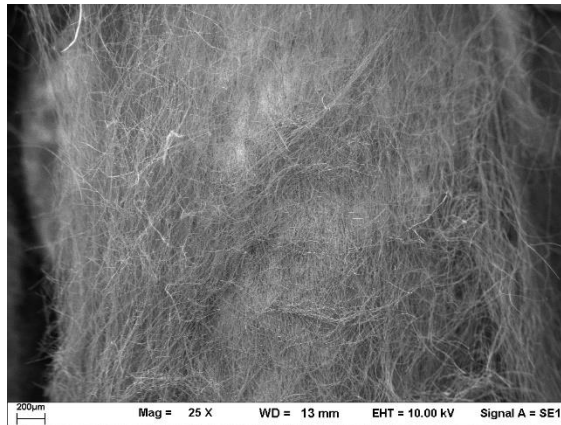


รูปที่ 1 ภาพถ่ายลักษณะทางกายภาพเมื่อมองด้วยตาเปล่า

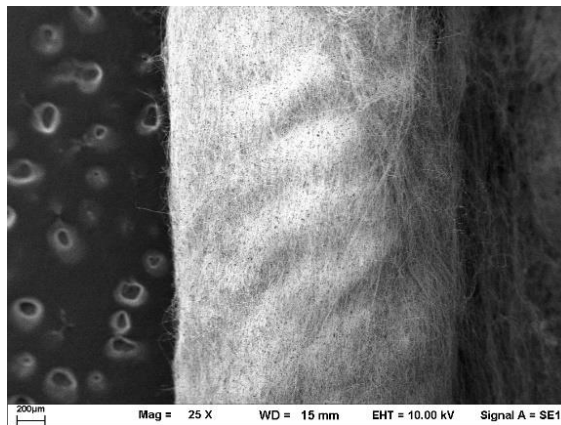
2. ภาพถ่ายลักษณะทางกายภาพเมื่อผ่านกล้อง Scanning electron microscope (SEM)



รูปที่ 2 ภาพถ่ายตัดขวางที่ผ่านการฉีกรวณของแผ่นเส้นใย PMMA/FA จากกล้อง Scanning Electron Microscope (SEM)

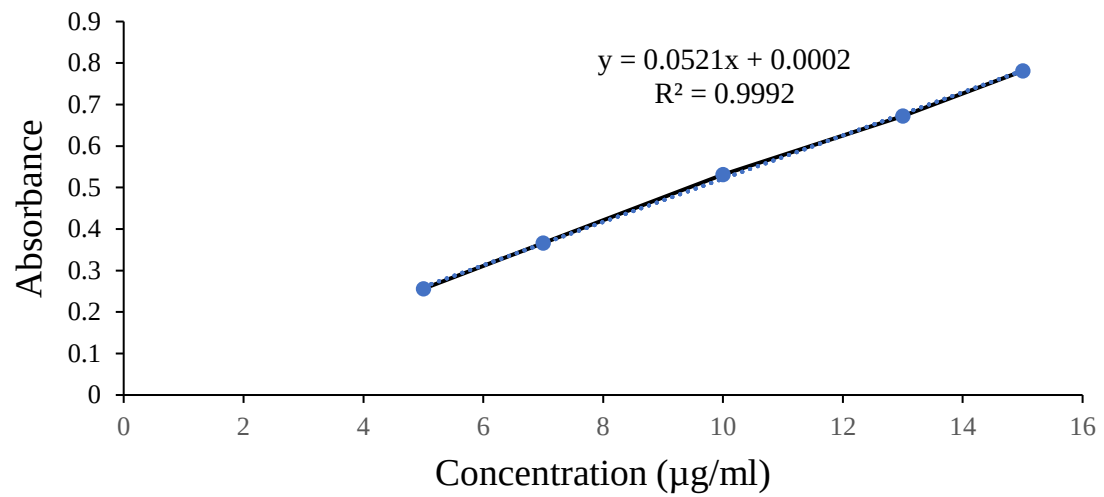


รูปที่ 3 ภาพถ่ายด้านบนที่ผ่านการม้วนของแผ่นเส้นใยแบบ non alignment ของแผ่นเส้นใยPMMA/FA จากกล้อง Scanning Electron Microscope (SEM)



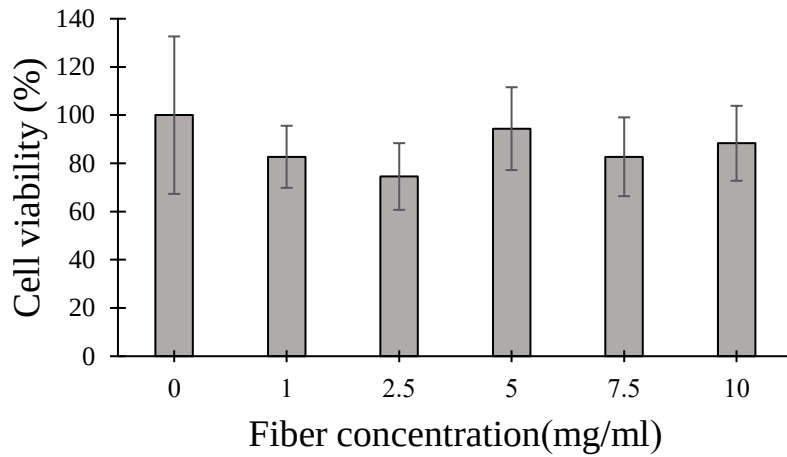
รูปที่ 4 ภาพถ่ายด้านบนที่ผ่านการม้วนของแผ่นเส้นใยแบบ alignment ของแผ่นเส้นใยPMMA/FA จากกล้อง Scanning Electron Microscope (SEM)

3. การหาปริมาณกรดฟอลิกที่สามารถปลดปล่อย (% content)

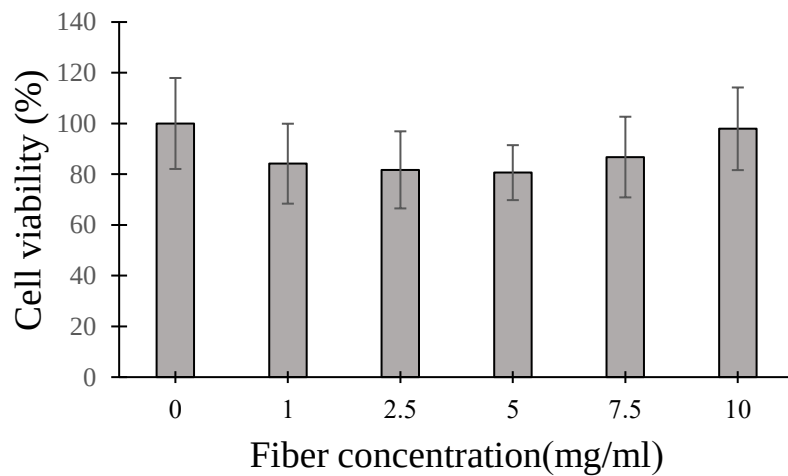


รูปที่ 5 กราฟมาตรฐาน (standard curve) ของกรดฟอลิก

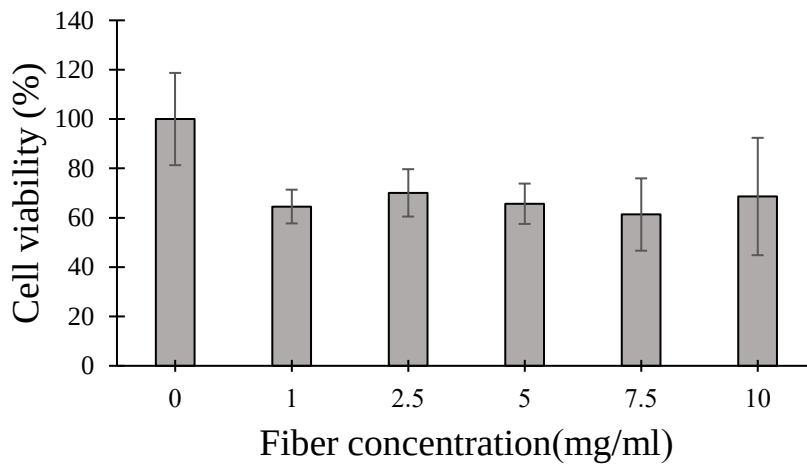
4. กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชวาน์เซลล์



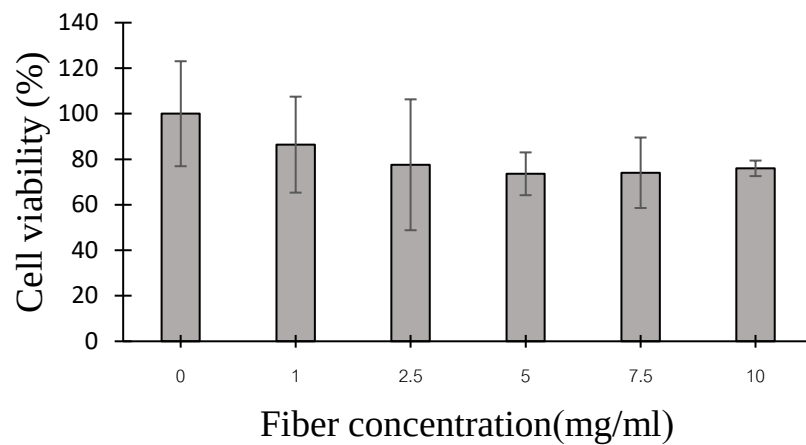
รูปที่ 6 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของชวาน์เซลล์ในสารละลายที่มีเส้นใย PMMA-120/FA ที่เจือจางเป็น 1 mg/ml 2.5 mg/ml 5 mg/ml 7.5 mg/ml และ 10 mg/ml และตัวอย่างควบคุม



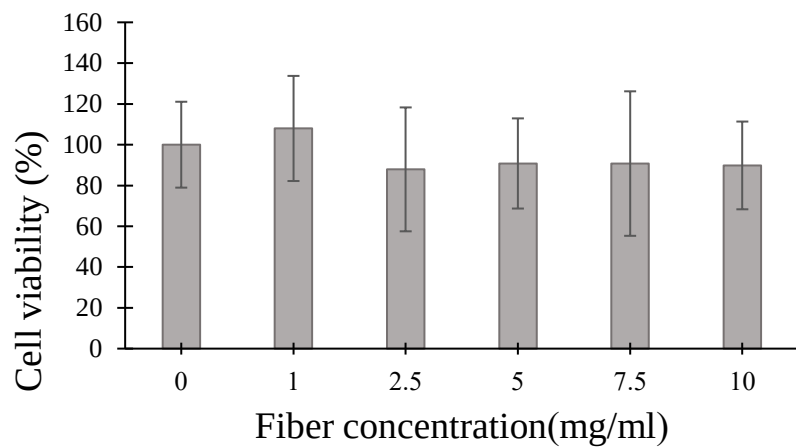
รูปที่ 7 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของชวาน์เซลล์ในสารละลายที่มีเส้นใย PMMA-120/FA ที่ความเข้มข้น 0.15 % ที่เจือจางเป็น 1 mg/ml 2.5 mg/ml 5 mg/ml 7.5 mg/ml และ 10 mg/ml และตัวอย่างควบคุม



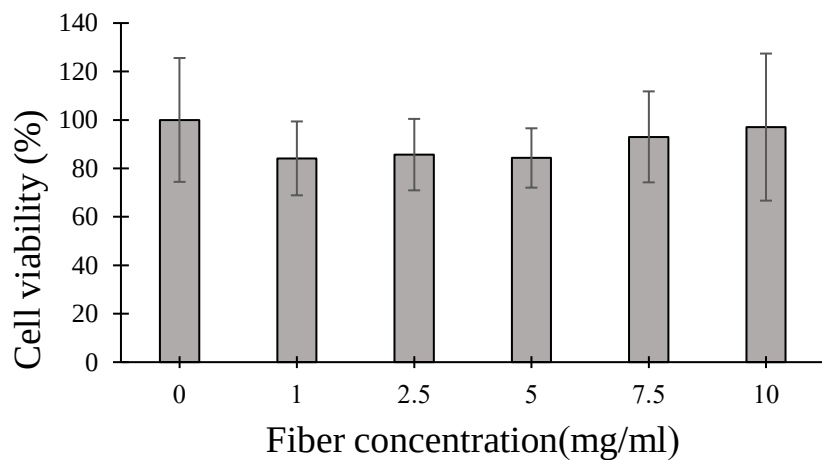
รูปที่ 8 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของชวานันเซลล์ในสารละลายที่มีเส้นใย PMMA-120/FA ที่ความเข้มข้น 0.25 % ที่เจือจางเป็น 1 mg/ml 2.5 mg/ml 5 mg/ml 7.5 mg/ml และ 10 mg/ml และตัวอย่างควบคุม



รูปที่ 9 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของชวานันเซลล์ในสารละลายที่มีเส้นใย PMMA-120/FA ที่ความเข้มข้น 0.35 % ที่เจือจางเป็น 1 mg/ml 2.5 mg/ml 5 mg/ml 7.5 mg/ml และ 10 mg/ml และตัวอย่างควบคุม

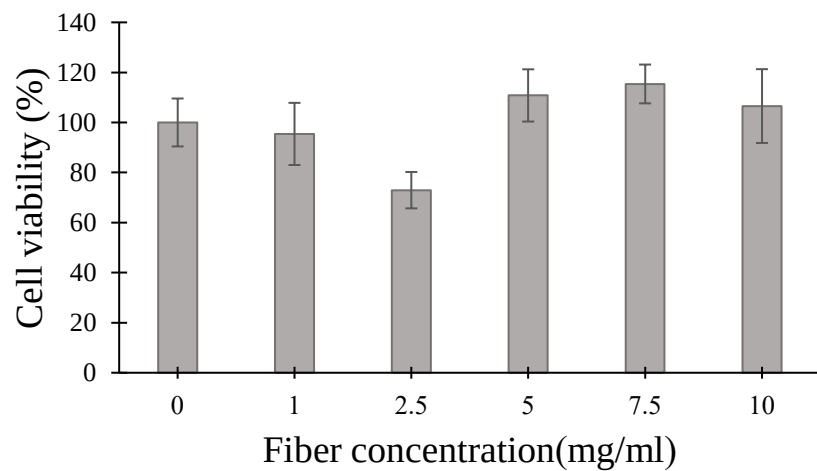


รูปที่ 10 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของชวานน์เซลล์ในสารละลายที่มีเส้นใย PMMA-350/FA ที่เจือจางเป็น 1 mg/ml 2.5 mg/ml 5 mg/ml 7.5 mg/ml และ 10 mg/ml และตัวอย่างควบคุม

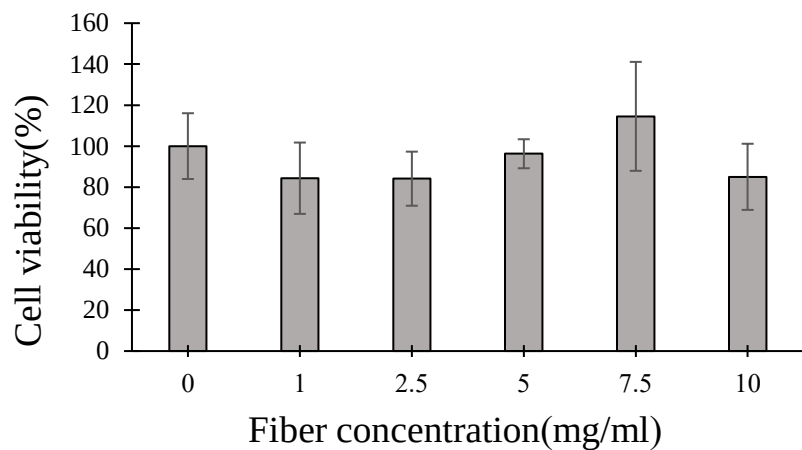


รูปที่ 11 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของชวานน์เซลล์ในสารละลายที่มีเส้นใย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 0.15% w/w ที่เจือจางเป็น 1 mg/ml 2.5 mg/ml 5 mg/ml 7.5 mg/ml และ 10 mg/ml และตัวอย่างควบคุม





รูปที่ 12 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของชวานน์เซลล์ในสารละลายที่มีเส้นใย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 0.25% w/w ที่เจือจางเป็น 1 mg/ml 2.5 mg/ml 5 mg/ml 7.5 mg/ml และ 10 mg/ml และตัวอย่างควบคุม



รูปที่ 13 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของชวานน์เซลล์ในสารละลายที่มีเส้นใย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 0.35% w/w ที่เจือจางเป็น 1 mg/ml 2.5 mg/ml 5 mg/ml 7.5 mg/ml และ 10 mg/ml และตัวอย่างควบคุม

## 5. สถิติ

ตารางที่ 1 แสดงสถิติ One-way ANOVA ของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย PMMA-120 ความเข้มข้น 20 % 23 % และ 25 % w/w

| Source of Variation | SS       | df | MS       | F        | P-value | F crit   |
|---------------------|----------|----|----------|----------|---------|----------|
| Between Groups      | 657489.4 | 2  | 328744.7 | 4.183744 | 0.07    | 5.143253 |
| Within Groups       | 471460   | 6  | 78576.67 |          |         |          |
| Total               | 1128949  | 8  |          |          |         |          |

ตารางที่ 2 แสดงสถิติ One-way ANOVA ของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย PMMA-350 ความเข้มข้น 13 % 14 % และ 15 % w/w

| Source of Variation | SS       | df | MS       | F       | P-value | F crit   |
|---------------------|----------|----|----------|---------|---------|----------|
| Between Groups      | 1020568  | 2  | 510283.9 | 4.18609 | 0.07    | 5.143253 |
| Within Groups       | 731399.3 | 6  | 121899.9 |         |         |          |
| Total               | 1751967  | 8  |          |         |         |          |

ตารางที่ 3 แสดงสถิติ One-way ANOVA ของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 13 % 14 % และ 15 % w/w

| Source of Variation | SS       | df | MS       | F        | P-value | F crit   |
|---------------------|----------|----|----------|----------|---------|----------|
| Between Groups      | 38136.15 | 3  | 12712.05 | 0.329754 | 0.80    | 4.066181 |
| Within Groups       | 308400.8 | 8  | 38550.1  |          |         |          |
| Total               | 346537   | 11 |          |          |         |          |

ตารางที่ 4 แสดงสถิติ One-way ANOVA ของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย PMMA-350/FA ความเข้มข้น 13 % 14 % และ 15 % w/w

| Source of Variation | SS       | df | MS       | F       | P-value | F crit   |
|---------------------|----------|----|----------|---------|---------|----------|
| Between Groups      | 30501.09 | 3  | 10167.03 | 0.22001 | 0.88    | 4.066181 |
| Within Groups       | 369693.4 | 8  | 46211.67 |         |         |          |
| Total               | 400194.5 | 11 |          |         |         |          |

ตารางที่ 5 แสดงสถิติ t-Test ของ %content PMMA-120/FA เปรียบเทียบระหว่างความเข้มข้น 0.25 % และ 0.35 % w/w

|                     | 0.0025   | 0.0035   |
|---------------------|----------|----------|
| Mean                | 50.03    | 45.98667 |
| Variance            | 31.2451  | 19.26773 |
| Observations        | 3        | 3        |
| Pooled Variance     | 25.25642 |          |
| Hypothesized Mean   |          |          |
| Difference          | 0        |          |
| df                  | 4        |          |
| t Stat              | 0.98537  |          |
| P(T<=t) one-tail    | 0.190114 |          |
| t Critical one-tail | 2.131847 |          |
| P(T<=t) two-tail    | 0.380228 |          |
| t Critical two-tail | 2.776445 |          |

ตารางที่ 6 แสดงสถิติ t-Test ของ % content PMMA-350/FAเปรียบเทียบระหว่างความเข้มข้น 0.25 % และ 0.35 % w/w

|                     | 0.0025   | 0.0035 |
|---------------------|----------|--------|
| Mean                | 47.88    | 39.43  |
| Variance            | 95.9539  | 3.2817 |
| Observations        | 3        | 3      |
| Pooled Variance     | 49.6178  |        |
| Hypothesized Mean   |          |        |
| Difference          | 0        |        |
| df                  | 4        |        |
| t Stat              | 1.469209 |        |
| P(T<=t) one-tail    | 0.107854 |        |
| t Critical one-tail | 2.131847 |        |
| P(T<=t) two-tail    | 0.215708 |        |
| t Critical two-tail | 2.776445 |        |

ตารางที่ 7 แสดงสถิติ t-Test ของ % content PMMA/FA 0.25 % w/w เปรียบเทียบระหว่างมวล  
โมเลกุล 120,000 และ 350,000

|                     | 120k 0.25%  | 350K 0.25% |
|---------------------|-------------|------------|
| Mean                | 50.03       | 47.88      |
| Variance            | 31.2451     | 95.9539    |
| Observations        | 3           | 3          |
| Pooled Variance     | 63.5995     |            |
| Hypothesized Mean   |             |            |
| Difference          | 0           |            |
| df                  | 4           |            |
| t Stat              | 0.330184923 |            |
| P(T<=t) one-tail    | 0.378914755 |            |
| t Critical one-tail | 2.131846786 |            |
| P(T<=t) two-tail    | 0.75782951  |            |
| t Critical two-tail | 2.776445105 |            |

ตารางที่ 8 แสดงสถิติ t-Test ของ % content PMMA/FA 0.35 % w/w เปรียบเทียบระหว่างมวล  
โมเลกุล 120,000 และ 350,000

|                     | 120K 0.35%  | 350K 0.35% |
|---------------------|-------------|------------|
| Mean                | 45.98666667 | 39.43      |
| Variance            | 19.26773333 | 3.2817     |
| Observations        | 3           | 3          |
| Pooled Variance     | 11.27471667 |            |
| Hypothesized Mean   |             |            |
| Difference          | 0           |            |
| df                  | 4           |            |
| t Stat              | 2.391530458 |            |
| P(T<=t) one-tail    | 0.037521469 |            |
| t Critical one-tail | 2.131846786 |            |
| P(T<=t) two-tail    | 0.075042937 |            |
| t Critical two-tail | 2.776445105 |            |

ตารางที่ 9 แสดงสถิติ one way ANOVA ของร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์ในกลุ่มตัวอย่าง  
เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม

| Source of Variation | SS       | df | MS       | F        | P-value  | F crit   |
|---------------------|----------|----|----------|----------|----------|----------|
| Between Groups      | 0.018791 | 5  | 0.003758 | 0.429543 | 0.823476 | 2.620654 |
| Within Groups       | 0.20998  | 24 | 0.008749 |          |          |          |
| Total               | 0.22877  | 29 |          |          |          |          |